



TESIS - SK 142502

**ISOLASI DAN BIOAKTIVITAS PENGHAMBAT LIPASE
PANKREAS TURUNAN FLAVONOID DARI TUMBUHAN
TONG-TONG (*Artocarpus elasticus*) PULAU ALOR -
NTT**

ROSALINA Y. KURANG
NRP. 1414 201 006

PEMBIMBING
Prof. Dr. Taslim Ersam

**PROGRAM MAGISTER
BIDANG KEAHLIAN KIMIA ORGANIK
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016**



THESIS - SK 142502

**ISOLATION AND BIOACTIVITY OF PANCREATIC LIPASE
INHIBITION FLAVONOIDS DERIVED FROM TONG-TONG
(*Artocarpus elasticus*) ALOR ISLAND - NTT**

ROSALINA Y. KURANG
NRP. 1414 201 006

SUPERVISOR
Prof. Dr. Taslim Ersam

MASTER PROGRAM
ORGANIC CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016

**Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Sains (M.Si)**

**di
Institut Teknologi Sepuluh November**

**Oleh :
ROSALINA YULIANA KURANG
NRP. 1414 201 006**

**Tanggal Ujian : 27 Juni 2016
Periode Wisuda : September 2016**

Disetujui oleh :

**1. Prof. Dr. Taslim Ersam
NIP. 19520816 197903 1 004**

(Pembimbing)

**2. Suprpto, M.Si., Ph.D.
NIP. 19720919 199802 1 002**

(Penguji)

**3. Dr. Afifah Rosyidah, M.Si.
NIP. 19730112 199802 2 001**

(Penguji)

Direktur Program Pascasarjana,

**Prof. Ir. Djaubar Manfaat, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19601202 198701 1 001**

**ISOLASI DAN BIOAKTIVITAS PENGHAMBAT LIPASE PANKREAS
TURUNAN FLAVONOID DARI TUMBUHAN TONG-TONG
(*Artocarpus elasticus*) PULAU ALOR - NTT**

Nama mahasiswa : Rosalina Y. Kurang
NRP : 1414 201 006
Dosen Pembimbing : Prof. Dr. Taslim Ersam

ABSTRAK

Dua senyawa turunan flavonoid yaitu artonin E dan sikloartobilosanton telah ditemukan pada tumbuhan *Artocarpus elasticus*, suatu tumbuhan dari pulau Alor – Nusa Tenggara Timur yang di kenal dengan nama Tongtong. Proses pemisahan kedua senyawa tersebut melalui ekstraksi, fraksinasi dan rekristalisasi menggunakan pelarut organik. Struktur senyawa ditentukan dengan menggunakan spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan NMR 2D. Artonin E dan sikloartobilosanton memperlihatkan aktivitas penghambat lipase pankreas dimana artonin E (IC₅₀ 56.23 µM) lebih tinggi dari sikloartobilosanton (IC₅₀ 424.99 µM). Namun aktivitas penghambat lipase pankreas kedua senyawa tersebut lemah terhadap orlistat (IC₅₀ 0.08 µM).

Kata kunci : *Artocarpus Elasticus*, flavon, Artonin E, sikloartobilosanton, lipase pankreas, Orlistat.

**ISOLATION AND BIOACTIVITY OF PANCREATIC LIPASE
INHIBITION FLAVONOIDS DERIVED FROM TONG-TONG
(*Artocarpus elasticus*) ALOR ISLAND – NTT**

By : Rosalina Y. Kurang
Student Identity Number : 1414 201 006
Supervisor : Prof. Dr. Taslim Ersam

ABSTRACT

Two compounds, flavonoid derivative, namely artonin E and cycloartobiloxanthone has been isolated from *Artocarpus elasticus* which is a plant from Alor Island – East Nusa Tenggara with local name Tongtong. Both compounds are separated by extraction, fractionation and recrystallization with organic solvent. The structure of compound was determined by UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and NMR 2D spectroscopy. Artonin E and cycloartobiloxanthone shows pancreatic lipase inhibitory activity which artonin E (IC₅₀ 56.23 μM) stronger than cycloartobiloxanthone (IC₅₀ 424.99 μM). However, the activity of pancreatic lipase inhibitor of two compounds also shows weak against orlistat (IC₅₀ 0.08 μM).

Keyword : *Artocarpus elasticus, flavonoid, Artonin E, cycloartobiloxanthone, pancreatic lipase, orlistat.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yesus Kristus atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulisan naskah Tesis yang berjudul **“Isolasi dan Bioaktivitas Penghambat Lipase Pankreas Turunan Flavonoid dari Tumbuhan Tong-Tong (*Artocarpus elasticus*) Pulau Alor - NTT”** dapat diselesaikan oleh penulis dengan baik. Naskah ini disusun sebagai syarat mata kuliah Tesis (SK 14-2502), Program Pascasarjana Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November.

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Taslim Ersam, selaku dosen pembimbing yang telah berkenan memberikan bimbingan, saran serta nasehat.
2. Prof. Didik Prasetyoko, M.Sc selaku ketua Jurusan Kimia FMIPA-ITS.
3. Prof. Mardi Santoso, Ph.D selaku ketua Program Studi Pascasarjana Jurusan Kimia FMIPA-ITS.
4. Prof. Dr. Perry Burhan, selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama perkuliahan.
5. Keluarga tercinta Bapak, Mama, Susi Ona, Bu Kiel dan Bu Kris yang selalu memberikan dukungan dan doa.
6. Seluruh jajaran Bapak Ibu Dosen Pascasarjana Kimia FMIPA ITS, atas segala dedikasinya dan ilmu yang diberikan.
7. Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan melalui Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi atas Beasiswa Pra-S2 periode 2013-2014 dan Beasiswa BPPDN periode 2014-2016.
8. LIPI Purwodadi atas izin identifikasi specimen.
9. Pak Irfan, analis laboratorium Instrumen ITS atas bantuan analisa IR, Ibu Elvira, analis Laboratorium Kimia Organik ITB atas bantuan analisa NMR, Edwin Risky Sukandar atas bantuan Uji Bioassay pada Unit Penelitian Bahan Alam, Jurusan Kimia Chulalongkorn University-Bangkok.
10. Teman-teman penghuni Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis yang telah memberikan dukungan dan semangat.

11. Teman-teman Pascasarjana Kimia Pra S2 2013 (Nusantara Class) yang telah memberikan dukungan dan semangat.
12. Teman-teman Flobamorata yang telah memberikan dukungan dan semangat. dan semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya proposal tesis ini.

Penulis menyadari bahwa naskah Tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun dari para pembaca sangat diharapkan. Akhir kata, penulis juga berharap naskah ini bermanfaat bagi pembaca.

Surabaya, 31 Mey 2016

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tinjauan Botani <i>Artocarpus elasticus</i>	7
2.2. Kegunaan Tanaman <i>Artocarpus elasticus</i>	8
2.3. Kandungan Kimia Dari Genus <i>Artocarpus</i>	8
2.4. Kandungan Kimia <i>Artocarpus Elasticus</i>	10
2.5. Tinjauan Flavonoid	11
2.6. Turunan Senyawa Biflavonoid Dari Kelompok PAKTI	13
2.7. Aktivitas Lipsae Pankreas	14
2.8. Teknik Isolasi, Pemisahan dan Pemurnian Senyawa	15
2.8.1. Ekstraksi	15
2.8.2. Pemisahan	16
2.8.2.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	17
2.8.2.2. Kromatografi Kolom Grafitasi (KKG)	18
2.8.2.3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	18
2.8.3. Pemurnian	18
2.9. Metode Spektroskopi	19
2.9.1. Spektrofotometer Serapan Ultraviolet dan Sinar Tampak (UV-Vis)	19
2.9.2. Spektrofotometer Inframerah (IR)	20

2.9.3. Spektroskopi NMR	21
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	23
3.1. Alat Dan Bahan	23
3.1.1. Alat	23
3.1.2. Bahan	23
3.2. Persiapan Bahan	23
3.3. Isolasi Dan Identifikasi	24
3.3.1. Isolasi Senyawa	24
3.3.1.1. Maserasi	24
3.3.1.2. Fraksinasi Fraksi Etil Asetat	24
3.4. Uji Kemurnian Dan Kelarutan	25
3.5. Penentuan Struktur	26
3.5.1. Spektroskopi UV	26
3.5.2. Spektroskopi IR	26
3.5.3. Spektroskopi ¹ H NMR	26
3.6. Uji Penghambat Lipase Pankreas	27
3.6.1. Uji Aktivitas Penghambat Lipase Pankreas	27
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1. Uji Pendahuluan	29
4.2. Ekstraksi Kulit Batang <i>A. Elasticus</i>	29
4.3. Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat	30
4.4. Pemurnian dengan Rekristalisasi dan Uji Kemurnian	36
4.5. Elusidasi Struktur	38
4.5.1. Elusidasi Struktur Senyawa 1	38
4.5.2. Elusidasi Struktur Senyawa 2	47
4.6 Aktivitas Penghambat Lipase Pankreas Senyawa 1 dan 2	54
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	57
5.1. Kesimpulan	57
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Pengelompokan fraksi hasil pemisahan KCV I	31
Tabel 4.2 Pengelompokan fraksi hasil pemisahan KCV II	32
Tabel 4.3 Pengelompokan fraksi hasil pemisahan KCV III	34
Tabel 4.4 Pengelompokan fraksi hasil pemisahan KKG	35
Tabel 4.5 Serapan Spektrum UV Menggunakan Pereaksi Geser	38
Tabel 4.6 Data ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR Senyawa 1 dalam DMSO	40
Tabel 4.7 Data perbandingan ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa 1 dengan Artonin E	42
Tabel 4.8 Data korelasi HMBC senyawa 1	43
Tabel 4.9 Serapan Spektrum UV Menggunakan Pereaksi Geser	47
Tabel 4.10 Data ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR Senyawa 2 dalam DMSO	49
Tabel 4.11 Data perbandingan ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa 2 dengan sikloartobilosanton	50
Tabel 4.12 Data korelasi HMBC senyawa 2	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Mapping senyawa turunan flavonoid terprenilasi dari <i>Artocarpus elasticus</i>	4
Gambar 2.1 Profil Tumbuhan <i>Artocarpus Elasticus</i>	7
Gambar 2.3 Tahap awal biosintesis flavonoid	12
Gambar 2.3 Alur biogenesis pembentukan senyawa-senyawa flavonoid dalam genus <i>Artocarpus</i>	13
Gambar 4.1 Kromatogram KLT hasil uji pendahuluan dielusi dengan eluen etil asetat 100%	29
Gambar 4.2 Kromatogram KLT hasil maserasi ekstrak etil asetat dengan eluen etil asetat : metilen klorida (1:1)	30
Gambar 4.3 Kromatogram KLT hasil pemisahan KCV I dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v	31
Gambar 4.4 Kromatogram KLT fraksi gabungan hasil pemisahan KCV I yang dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v	31
Gambar 4.5 Kromatogram KLT hasil pemisahan KCV II dielusi dengan metanol: metilen klorida (1:19) v/v	32
Gambar 4.6 Kromatogram KLT fraksi gabungan KCV 2 yang dielusi dengan metanol: metilen klorida (1:19) v/v	33
Gambar 4.7 Kromatogram KLT fraksi D dielusi dengan metanol: metilen klorida (1:19) v/v	33
Gambar 4.8 Kromatogram KLT hasil pemisahan KCV III yang dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v	34
Gambar 4.9 Kromatogram KLT fraksi gabungan KCV III dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19)	34
Gambar 4.10 Kromatogram KLT hasil pemisahan KKG yang dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19)	35
Gambar 4.11 Kromatogram KLT fraksi gabungan KKG dielusi dengan metanol:m etilen klorida 5%	36
Gambar 4.12 Kromatogram fraksi B dielusi dengan metanol: metilen klorida	

(1:19) v/v	36
Gambar 4.13 Kromatogram KLT uji 3 eluen senyawa 1	37
Gambar 4.14 Kromatogram KLT uji 3 eluen senyawa 2	37
Gambar 4.15 Kromatogram KLT Senyawa 1 dan 2 dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v	38
Gambar 4.16 Spektrum IR Senyawa 1	39
Gambar 4.17 Korelasi HMBC parsial 1 untuk senyawa 1	44
Gambar 4.18 Korelasi HMBC parsial 2 untuk senyawa 1	44
Gambar 4.19 Korelasi HMBC parsial 3 untuk senyawa 1	45
Gambar 4.20 Korelasi HMBC parsial 4 untuk senyawa 1	46
Gambar 4.21 Korelasi HMBC senyawa 1	46
Gambar 4.22 Spektrum IR Senyawa 2	48
Gambar 4.23 Korelasi HMBC parsial 1 senyawa 2	52
Gambar 4.24 Korelasi HMBC senyawa 2	53
Gambar 4.25 Mapping senyawa turunan flavonoid terprenilasi dari <i>Artocarpus elasticus</i>	54
Gambar 4.26 Aktivitas penghambat lipase pankreas oleh Senyawa 1	55
Gambar 4.27 Aktivitas penghambat lipase pankreas oleh Senyawa 2	55

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya sumber daya alam hayati. Dimana sekitar 40% dari keanekaragaman tumbuhan dunia dimiliki oleh hutan Indonesia. Kurang lebih 2000 spesies tumbuhan Indonesia memiliki kegunaan sebagai sandang, pangan, dan papan. Selain itu juga, sekitar 80% dari populasi tumbuhan Indonesia terdiri dari tumbuhan obat-obatan. Oleh karena itu, hal ini dapat membuka peluang untuk penyelidikan terhadap tanaman obat-obatan dan pencarian senyawa kimia dari tumbuhan dengan aktivitasnya yang menarik semakin banyak dilakukan (Ersam, 2004).

Salah satu famili tumbuhan yang terdapat di hutan tropika yaitu Moraceae, suatu famili tumbuhan yang cukup besar yang terdiri dari 60 genus dengan 1600 spesies (Hegnauer, 1969) dan tumbuh di daerah tropis dan subtropis di Asia, Amerika, Afrika dan Australia (Venkataraman, 1972). Indonesia memiliki 80 spesies dari 17 genus tumbuhan Moraceae (Heyne, 1987), dengan tiga genus utama yaitu *Artocarpus*, *Ficus* dan *Morus*. Pohon dari famili Moraceae umumnya merupakan tanaman berkayu yang bervariasi dengan tinggi pohon sekitar 30 meter. Tumbuhan dari famili Moraceae kaya akan senyawa fenolit seperti calkon, flavonoid, santon, stilben dan 2-arilbenzofuran. *Artocarpus* terdiri dari sekitar 50 spesies yang tersebar di Srilanka, India, Pakistan dan Indo Cina, tetapi keanekaragaman terbesar terdapat di Indonesia (Venkataraman, 1972).

Tumbuhan *Artocarpus* sudah banyak di kenal oleh masyarakat dan banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk antiinflamasi, demam, malaria, sirosis hati, hipertensi, dan bersifat detoksifikasi (Heyne, 1987). Beberapa spesies dari taksa ini telah dilaporkan seperti *A. bracteata*, *A. altilis*, *A. heterophyllus*, *A. champeden*, *A. Communis*, *A. dadah*, *A. rigida*, *A. nitidus* dan *A. lakoocha* dan diperoleh senyawa metabolit sekunder terutama senyawa-senyawa turunan flavonoid terprenilasi. Senyawa-senyawa dengan kerangka dasar preniflavonoid, dimana gugus prenil tersubstitusi pada posisi C-3 dan pola dioksidasi pada posisi

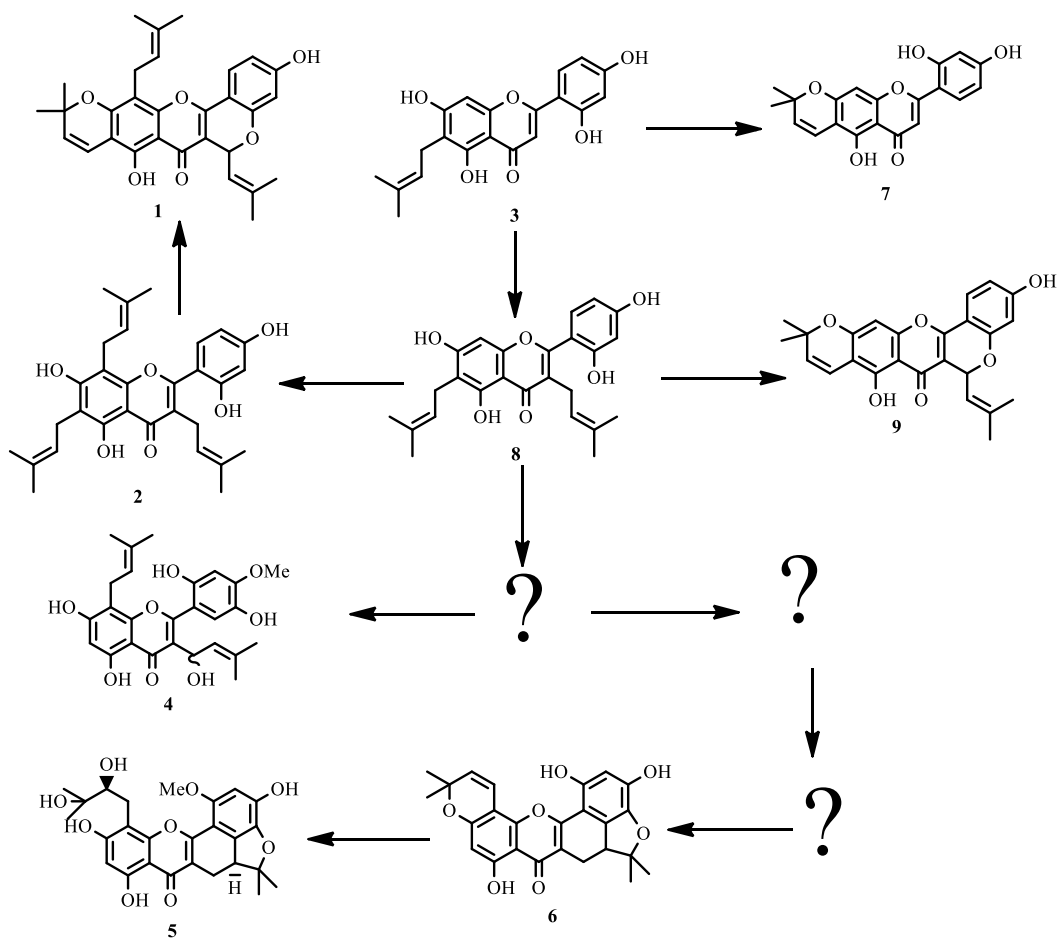
karbon 2', 4' atau trioksigenasi pada posisi 2', 4' dan 5' untuk cincin B (Ersam.T., 2001). Beberapa senyawa tersebut memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan, antiinflamasi, antitumor, antikanker, antibakteri dan juga anti obesitas.

Setiap orang memerlukan sejumlah lemak tubuh untuk menyimpan energi, penyekat panas, penyerap guncangan, dan lainnya. Namun dalam jumlah berlebihan, timbunan lemak justru akan merugikan metabolisme tubuh. Secara ilmiah, obesitas terjadi akibat mengkonsumsi kalori lebih banyak dari yang diperlukan oleh tubuh. Salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya obesitas yaitu tidak mengatur pola makan dengan baik misalnya dengan mengkonsumsi makanan berlemak secara tidak teratur. Oleh sebab itu, banyak orang melakukan berbagai cara untuk menurunkan bobot badannya. Lemak yang terdapat di dalam tubuh dihidrolisis pada jaringan pankreas. Apabila aktivitas lipase pankreas meningkat, maka akan meningkatkan penyerapan monogliserida dan asam lemak yang berpengaruh pada obesitas. Hal inilah yang akan menimbulkan penimbunan lemak dalam tubuh. Oleh karena itu, aktivitas lipase pankreas harus dihambat supaya penimbunan lemak tidak terjadi.

Salah satu inhibitor dalam menghambat aktivitas lipase yang dijual di pasaran adalah Orlistat. Orlistat/Xenical merupakan inhibitor pertama yang ditemukan, yang merupakan senyawa turunan lipostatin dari bakteri *Streptomyces toxitricini*. Penghambatan aktivitas lipase oleh Orlistat terjadi pada usus, namun karena harga Orlistat terkadang membuat masyarakat harus pasrah karena tidak mampu membelinya. Efek samping yang ditimbulkan bila pemakaian dalam jangka panjang Orlistat yaitu mempengaruhi sistem gastrointestinal (ISFI, 2006:303). Timbulnya efek samping dari penggunaan Orlistat mengakibatkan perlu adanya alternatif lain bila di konsumsi dalam jangka panjang tidak menimbulkan efek samping. Penggunaan bahan alami atau tradisional merupakan alternatif pengganti Orlistat selain mengatur pola makan dan olahraga teratur. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif yang berpotensi sebagai antiobesitas dalam menghambat aktivitas lipase pankreas adalah flavonoid dan steroid misalnya pada daun jati belanda dan daun asam jawa (Darusman *et al.*, 2001) dan senyawa flavon pada kayu *A. nitidus* (Zhao *et al.*, 2009).

Salah satu tumbuhan yang memiliki senyawa flavonoid yaitu Tongtong. Tumbuhan ini termasuk dalam jenis nangka – nangkaan (genus *Artocarpus*) yang berupa pohon besar dengan tinggi sekitar 30 meter. Nama latin tumbuhan ini adalah *Artocarpus elasticus*. Di Indonesia tumbuhan ini dikenal dengan nama lain diantaranya yaitu Mengko (Aceh), Torop, Hatapul Miak (Batak), Benda, Teurap (Sunda), Benda, B. Ketan, B. Kebo (Jawa), Kokap (Madura), Terap (Sumatra), (Heyne K., 1987). Sedangkan di pulau Alor - NTT dikenal sebagai Tong-tong. Tumbuhan ini memiliki beberapa manfaat, di antaranya yaitu sebagai obat tradisional. Masyarakat menggunakan tumbuhan ini, di mana batang kayunya digunakan untuk bahan bangunan, kulit getahnya untuk lem dan daunnya di bakar untuk mengusir nyamuk. Namun sampai saat ini masyarakat belum menggunakan tumbuhan ini sebagai tanaman obat dan juga belum ada penelitian tentang tanaman *A. elasticus* dari daerah ini.

Dari beberapa penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya, terdapat sejumlah turunan flavon terprenilasi telah berhasil diisolasi dari tumbuhan *A. elasticus*, antara lain senyawa artelastokromen (**1**), artelastisin (**2**) artocarpesin (**3**) (Kijjoa *et al.*, 1996), artelasticinol (5,7,2',5' tetrahidroksi-4'-metoksi-8-prenil (9-hidroksi) preniflavon) (**4**), sikloartelastosantediol (**5**) (5,5a,6-trihidro-1,3,8-trihidroksi-1-metoksi-11- (2',3' hidroksi-3'-metil-butenil)-5,5, dimetilbensofura (3,3a,4:ab)santen-7-1) (**7**), (Ko *et al.*, 2005; Lin *et al.*, 2008), cycloartobiloxanthone (**6**) (Lin *et al.*, 2008), sikloartocarpesin (**7**) (Ramli *et al.*, 2013), cudraflavon C (**8**) dan cudraflavon A (**9**) (Mustapa *et al.*, 2009). Dari senyawa yang dihasilkan, pola pembentukan senyawa tersebut dapat disarankan melalui mapping senyawa – senyawa yang di hasilkan dari *A. elasticus*, seperti pada Gambar 1.1.



Gambar 1.1 Saran mapping senyawa turunan flavonoid terpenilasi dari *Artocarpus elasticus*

Memperhatikan jalur biogenesis pada gambar tersebut memberikan informasi bahwa peluang untuk menemukan senyawa turunan flavon terpenilasi pada posisi yang lain sangat besar. Dan juga berdasarkan pendekatan kemotaksonomi yang menunjukkan bahwa perbedaan geografi tempat tumbuh seringkali menghasilkan variasi senyawa yang diisolasi. Oleh karena itu maka mendorong peneliti untuk melakukan isolasi dan bioaktivitas penghambat lipase pankreas senyawa turunan flavon dari kulit batang *Artocarpus elasticus* Pulau Alor-NTT

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan saran mapping senyawa yang sudah dilaporkan dari tumbuhan *A. elasticus* ternyata masih terdapat peluang ditemukan senyawa turunan flavon terprenilasi dan termodifikasi dari tumbuhan *A. elasticus* yang berasal dari Alor - NTT yang sudah di laporkan dan dilakukan uji aktivitas penghambat lipase pankreas.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan senyawa turunan flavon terprenilasi dari kulit batang tumbuhan *A. elasticus* dari pulau Alor – NTT serta mengetahui aktivitas penghambat lipase pankreas.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dimanfaatkan untuk memperoleh sumber antiobesitas baru yang dapat menghambat aktivitas lipase pankreas dan meningkatkan daya guna tumbuhan *A. elasticus*.

“ Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani *Artocarpus elasticus*

Artocarpus elasticus (Gambar 2.1) merupakan tumbuhan bergetah, termasuk dalam famili Moraceae yang meliputi puluhan genus dan ribuan spesies. Tumbuhan ini diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Urticales
Family	: Moraceae
Genus	: <i>Artocarpus</i>
Spesies	: <i>Artocarpus elasticus</i>



Gambar 2.1 Profil Tumbuhan *Artocarpus elasticus*

Ciri-ciri morfologi tumbuhan *A. elasticus* yaitu pohon banyak mengandung getah, tingginya mencapai 40 meter, dengan diameter batang 70 cm, bentuk daun lonjong dan besar seperti daun jati berukuran 20-40 cm x 15 x 25 cm, tulang daun menyirip agak tebal, keras dan panjang tangkai daun 3,5-7 cm. Bunga *A. elasticus* merupakan bunga majemuk, bunga jantan berwarna kuning dengan panjang 6-15 cm, tangkai bunga 4-6 cm, sedang bunga betina berbentuk bulat atau lonjong,

berwarna kuning gelap, dan berukuran 16 x 19 cm. Buahnya hanya muncul setahun sekali pada ujung dahan di akhir musim hujan, berwarna hijau yang lama kelamaan menjadi kuning kecokelatan setelah matang. Bentuk buah bulat seperti kluweh (*A. comunis*), berbobot 1-2 kg. Kayu tumbuhan tersebut mempunyai sifat halus atau agak halus, sedikit padat sampai agak padat, serat kasar, mengkilap dan kuning muda, tetapi akhirnya menjadi coklat (Lim. T.K, 2012).

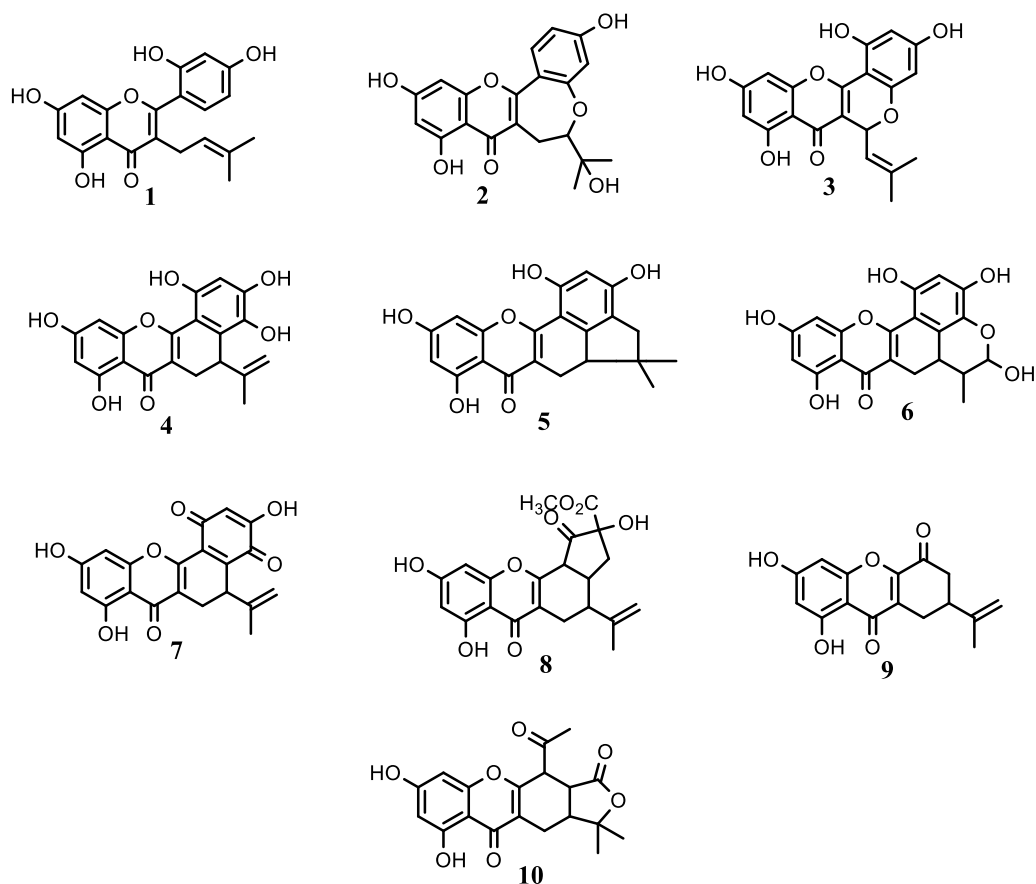
2.2 Kegunaan Tanaman *Artocarpus elasticus*

Tanaman *A. elasticus* memiliki manfaat dari akar sampai bunga yang sebagian besar di gunakan sebagai obat-obatan. Menurut Heyne (1987), manfaat dari tumbuhan ini adalah sebagai berikut :

- a. Kulit kayu : serat yang dihasilkan dari kulit kayunya bisa digunakan untuk kain, bahan campuran kertas dan tali temali.
- b. Daun : daunnya bisa digunakan untuk mengobati penderita paru-paru dan penggunaan - penggunaan lainnya seperti halnya *A. integra* yang tercantum dalam ilmu keperawatan. Menurut De Clereg daunnya bisa di campur dengan nasi sebagai obat tuberculose.
- c. Getah : getah waernannya putih, bau manis, rasa pahit di gunakan sebagai penangkap burung dan dapat juga digunakan sebagai obat disentri.
- d. Kayu : selain digunakan untuk keperluan rumah tangga, bagian dalamnya bisa digunakan untuk mengobati luka dan dapat mengusir serangga.
- e. Akar : akarnya juga bisa digunakan untuk obat dan jamu.
- f. Buah : buahnya manis dan bisa di makan.
- g. Biji : bijinya bisa di rebus dan di makan, juga mengandung minyak padat walau dalam jumlah sedikit

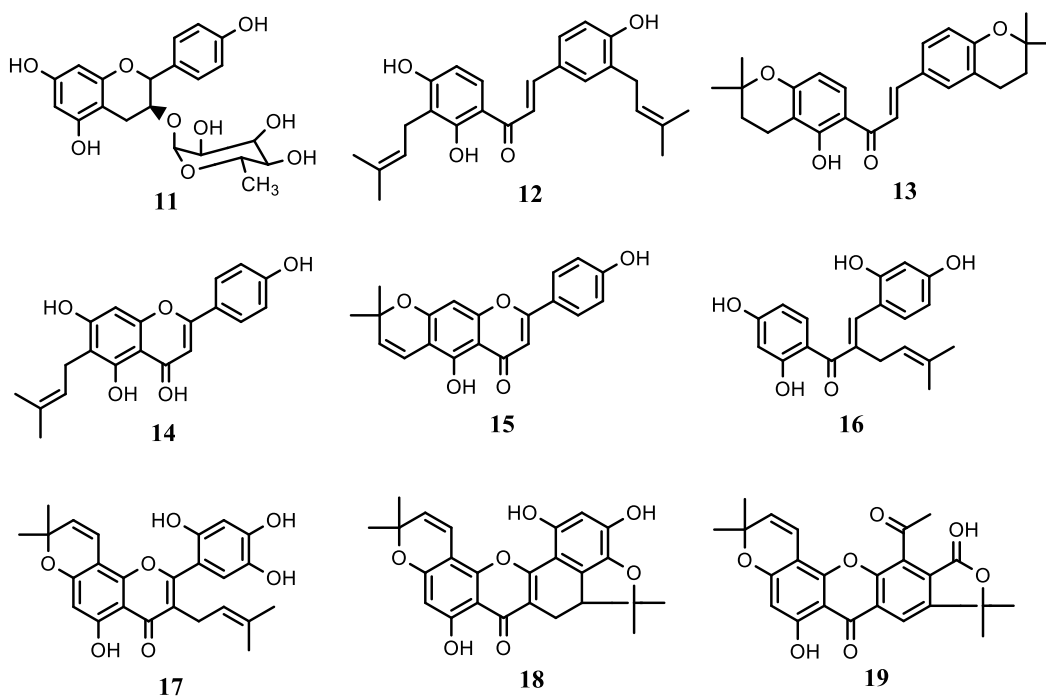
2.3 Kandungan Kimia dari Genus *Artocarpus*

Dari berbagai hasil penelitian mengenai kandungan kimia pada tumbuhan kimia *Artocarpus*, telah dilaporkan menghasilkan sepuluh kerangka dasar flavon, yaitu 3-prenilflavon (1), oksepinoflavon (2), piranoflavon (3), dihidrobenzosanton (4), furanodihidro-benzosanton (5), piranodihidrobenzosanton (6), kuinosanton (7), siklopentenosanton (8), dihidrosanton (9) dan santanolida (10) (Syah, 2014).



Dari hasil laporan terhadap *Artocarpus* Sumatra Barat yaitu, *A. bracteata*, *A. altilis* dan *A. dadah* diperoleh sembilan metabolit sekunder turunan flavonoida. Dari *A. dadah* dihasilkan senyawa afselekin-3-O- α -L-ramnosida (**11**). *A. bracteata* diperoleh empat senyawa, yaitu kanzonol C (**12**), artoindonesianin J (**13**), 6-prenilapigenin (**14**) dan karpakromen (**15**). Pada *A. altilis*, ditemukan pula empat senyawa, yaitu morusin (**16**), artonin E (**17**), sikloartobilosanton (**18**), dan artonol B (**19**). Secara biogenesis pembentukan senyawa mempunyai keterkaitan satu sama lain dengan ciri *mono*-oksigenasi pada salah satu cincin dari kerangka dasar flavonoid pada cincin B. Sedangkan yang diperoleh dari *A. altilis* memperlihatkan senyawa – senyawa dengan kerangkah dasar prenilasi flavon, dimana gugus prenil tersubstitusi pada posisi C-3 dan pola dioksigenasi pada posisi karbon 2' dan 4' atau trioksigenasi pada posisi karbon 2', 4' dan 5' untuk cincin B. Senyawa artonol B adalah suatu senyawa santon yang berasal dari hasil modifikasi turunan prenilasi

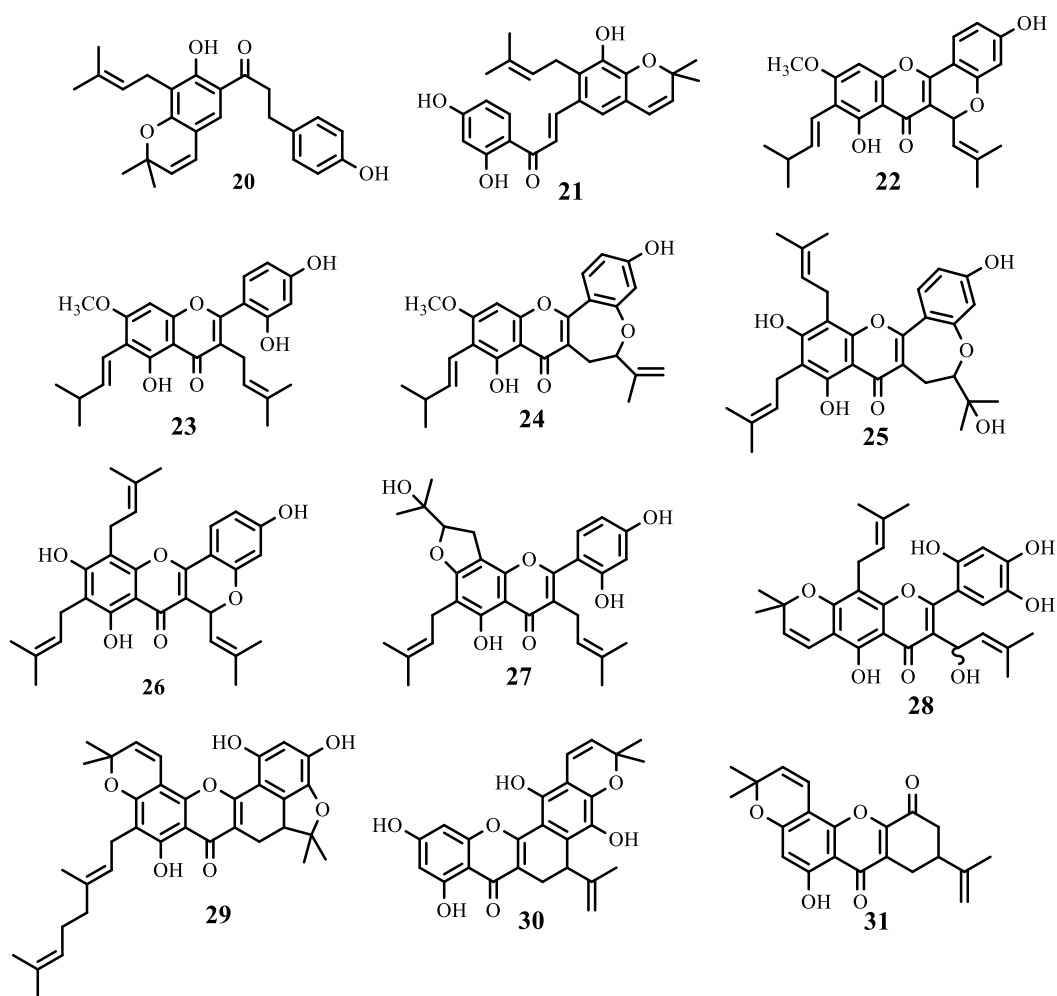
flavon (sikloartobilosanton) melalui reaksi reduksi dan penataan ulang Claisen (Ersam, 2001).



2.4 Kandungan Kimia *Artocarpus elasticus*

Berbagai bagian Tanaman *A. elasticus* telah berhasil diisolasi yang menghasilkan berbagai senyawa flavon dan turunannya. Isolasi dari daun tumbuhan ini menghasilkan diprenilasi dihidrokalkon baru yaitu dihidrokalkon 1 (Elastikalkon A) (**20**) dan dihidrokalkon 2 (Elastikalkon B) (**21**) (Ramli *et al.*, 2013). Oxepinoflavon juga berhasil diisolasi dari kayu tumbuhan ini yang menghasilkan sikloartocarpin (**22**), Artocarpin (**23**), Artoindosianin E (**24**) (Mustapa *et al.*, 2009). Isolasi dari kayu tumbuhan ini juga menghasilkan flavon terprenilasi yaitu, Artelastinin (**25**) (Kijjoa, *et al.*, 1998), Artelastin (**26**) (Kijjoa, *et al.*, 1996). Flavon terprenilasi juga diisolasi dari kulit akar tumbuhan ini, yaitu Artelastofuran (**27**) (Kijjoa, *et al.*, 1998), artelastoheterol (5,2',4',5'-tetrahidroksi-6,7-(2,2-dimetil-6H-piran)-8 prenil-3-(9-hidroksi) prenilflavon) (**28**), sikloartelastosanton (9-geranil 5,5a,6,11-tetrahidro-1,3,8-trihidroksi-5,5,11,11 tetrametilbenzofura (3,3a,4a:b) pirano (2',3':j) santen-7-1) (**29**), Artelastoxanthone (**30**) (Ko *et al.*, 2005) dan Artonol A (**31**) (Lin *et al.*, 2009). Turunan flavon

terprenilasi bersifat sitotoksik dan juga sebagai antioksidan (Lin *et al.*, 2008). Tambahan pula, suatu turunan flavon terprenilasi (Artelastin) yang bersifat inhibitor terhadap penyebaran limfosit dan neutrofilik juga telah ditemukan dari bagian kayu tumbuhan ini (Cerqueira *et al.*, 2003; Cerqueira *et al.*, 2008).

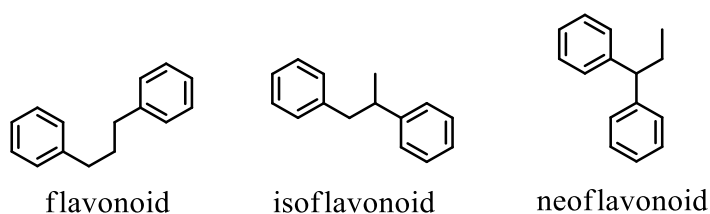


2.5 Tinjauan Flavonoid

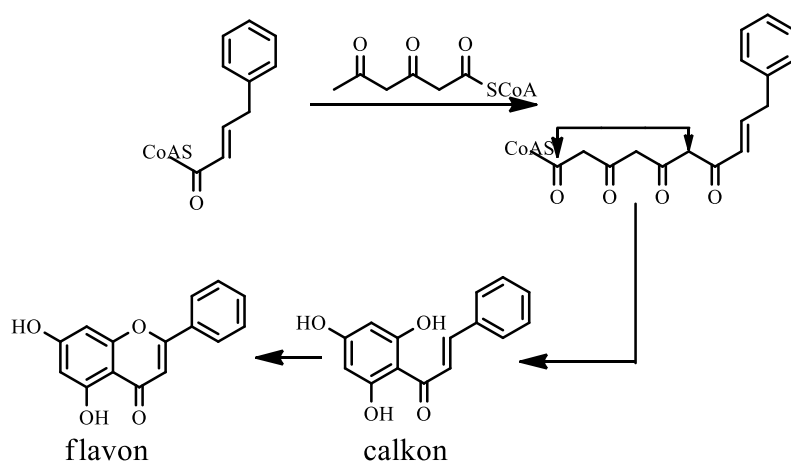
Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi pada struktur tersebut. Flavonoid dalam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat pada tanaman.

Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur fotosintesis, sebagai zat antimikroba, antivirus dan antiisektisida. Telah banyak flavonoid yang diketahui memberikan efek fisiologis tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak di pakai dalam pengobatan tradisional.

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon yang membentuk susunan C₆-C₃-C₆. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu flavonoid (1,3-diarilpropana), isoflavonoid (1,2-diaril propana), neoflavonoid (1,1-diaril propana).



Biosintesis flavonoid melibatkan dua jalur biosintesis yang utama untuk cincin aromatik, yaitu jalur shikimat dan jalur asetat malonat. Cincin A pada struktur flavonoid berasal dari jalur poliketida, yaitu kondensasi dari tiga unit asetat atau malonat sedangkan cincin B dan rantai propan berasal dari fenilpropanoid (jalur shikimat) (Kristanti *et al*, 2008). Tahap awal biosintesis terlihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Tahap awal biosintesis flavonoid

The diagram illustrates the biosynthetic pathways of various xanthone derivatives. The central compound is 6-prenilapigenin, which serves as a precursor for several other compounds. The pathways are as follows:

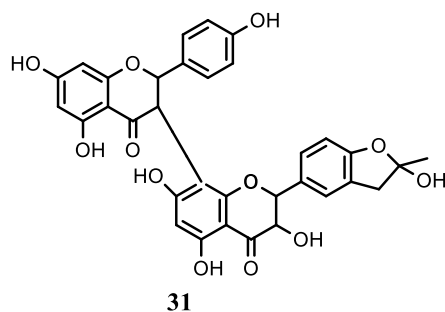
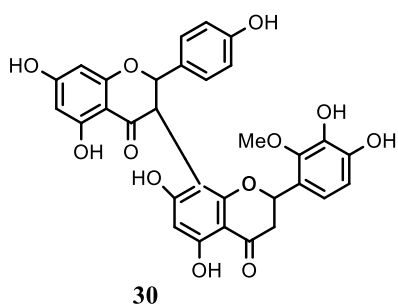
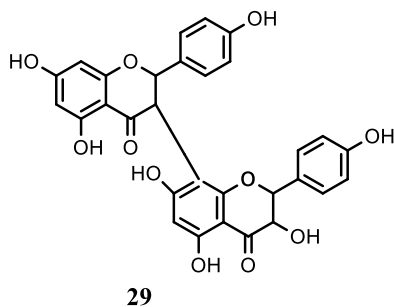
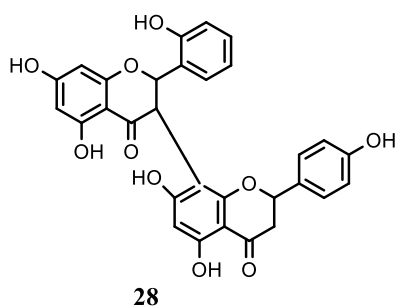
- Artobilosanton** and **Sikloartobilosanton** are formed from 6-prenilapigenin via oxidation ([O]).
- Artanol B** is formed from Artobilosanton via oxidation ([O]).
- Karpakromen** is formed from 6-prenilapigenin via oxidation ([O]).
- Morusin** is formed from 6-prenilapigenin via oxidation ([O]).
- Artonin E** is formed from Morusin via oxidation ([O]).
- Artoindonesianin J** is formed from 6-prenilapigenin via oxidation ([O]).
- Kazonol C** is formed from 6-prenilapigenin via oxidation ([O]).
- Calkon** is formed from 6-prenilapigenin via oxidation ([O]).
- Flavanol** is formed from Calkon via oxidation ([O]).

The diagram also shows the conversion of 6-prenilapigenin to other compounds using $2 \times \text{IPP}$ (Isopentenyl pyrophosphate) and IPP .

2.6 Turunan Senyawa Biflavonoid dari Kelompok PAKTI

13

biflavonoid GB-1 (**29**), biflavonoid 5,7,4',5'',7'',3''',4'''-heptahidroksi-2'''-metoksi-flavanon(3,8'')flavon (**30**) (Indarti. R., 2009), 5,7,4',3'',5'',7'',12-heptahidroksi-12-metilhidrofuran-(3''',4''')-3,8''-biflavanon (**31**) (Astuti. M, Ersam, T., 2009).



2.7 Aktivitas Lipase Pankreas

Obesitas merupakan suatu kondisi dimana seseorang memiliki berat badan yang lebih berat dibandingkan dengan berat idealnya. Hal ini disebabkan karena penumpukan lemak berlebihan akibat adanya surplus energi dimana jumlah kalori yang masuk lebih banyak daripada kalori yang dibakar melalui aktivitas fisik. Obesitas bagi sebagian orang sangat mengganggu, baik dalam hal penampilan maupun kesehatan. Penyakit-penyakit yang diakibatkan oleh obesitas adalah diabetes melitus tipe II, hipertensi, radang sendi, dan penyakit jantung pembuluh darah yang dapat menyebabkan kematian. Oleh sebab itu, banyak orang melakukan berbagai cara untuk menurunkan bobot badannya. Lemak yang terdapat di dalam tubuh dihidrolisis pada jaringan pankreas. Apabila aktivitas lipase pankreas meningkat, maka akan meningkatkan penyerapan monogliserida dan asam lemak yang berpengaruh pada obesitas. Hal inilah yang akan menimbulkan penimbunan

lemak dalam tubuh. Oleh karena itu, aktivitas lipase pankreas harus dihambat supaya penimbunan lemak tidak terjadi.

Aktivitas lipase yang semakin meningkat mampu meningkatkan jumlah monogliserida dan asam lemak yang serap oleh tubuh, hal inilah yang berpengaruh pada kegemukan. Jika aktivitas lipase pankreas terhambat, maka produksi asam lemak akan menurun, akibatnya kadar lemak dalam darah juga akan menurun. Salah satu inhibitor dalam menghambat aktivitas lipase yang dijual di pasaran adalah Orlistat. Orlistat/Xenical merupakan inhibitor pertama yang ditemukan, yang merupakan senyawa turunan lipostatin dari bakteri *Streptomyces toxitricini*. Penghambatan aktivitas lipase oleh Orlistat terjadi pada usus, namun karena harga Orlistat terkadang membuat masyarakat harus pasrah karena tidak mampu membelinya. Efek samping yang ditimbulkan bila pemakaian dalam jangka panjang Orlistat yaitu mempengaruhi sistem gastrointestinal (ISFI, 2006:303). Timbulnya efek samping dari penggunaan Orlistat mengakibatkan perlu adanya alternatif lain bila di konsumsi dalam jangka panjang tidak menimbulkan efek samping. Penggunaan bahan alami atau tradisional merupakan alternatif pengganti Orlistat selain mengatur pola makan dan olahraga teratur. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif yang berpotensi sebagai antiobesitas dalam menghambat aktivitas lipase pankreas adalah flavonoid dan steroid misalnya pada daun jati belanda dan daun asam jawa (Darusman *et al.*, 2001) dan senyawa flavon pada kayu *A. nitidus* (Zhao *et al.*, 2009).

2.8 Teknik Isolasi, Pemisahan dan Pemurnian Senyawa

2.8.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat terlarut berdasarkan sifat distribusinya dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Berdasarkan perbedaan kelarutan maka suatu senyawa dapat terpisah secara selektif pada suatu jenis pelarut tertentu yaitu senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar dan sebaliknya senyawa non polar akan larut didalam pelarut non polar atau umumnya dikenal dengan istilah "*like dissolves like*" (Harborne,1996).

Berdasarkan bentuk campuran yang diekstraksi, dapat dibedakan dua macam ekstraksi, yaitu :

- a. Ekstraksi padat-cair, jika substansi yang diekstraksi terdapat di dalam campurannya yang berbentuk padat.
- b. Ekstraksi cair-cair, jika substansi yang diekstraksi terdapat didalam campurannya yang berbentuk cair.

Berdasarkan proses pelaksanaannya, ekstraksi dapat dibedakan sebagai berikut :

- a. Ekstraksi yang berkesinambungan. Dalam ekstraksi ini pelarut yang sama dipakai berulang –ulang sampai proses ekstraksi selesai.
- b. Ekstraksi bertahap. Dalam ekstraksi ini pada tiap tahap selalu dipakai pelarut yang baru sampai proses ekstraksi selesai (Kristanti, *et al.*, 2008)

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dalam perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol paling banyak digunakan untuk proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Pavia, *et al.*, 1990).

2.8.2 Pemisahan

Teknik pemisahan dan pemurnian yang sering digunakan adalah teknik kromatografi. Kromatografi merupakan teknik pemisahan fisikokimia yang menggunakan fase diam berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai penyerap atau berfungsi sebagai penyangga untuk lapisan zat cair. Serbuk yang paling umum digunakan antara lain silika gel, selulosa, dan alumina (Harborne, 1996). Fase gerak dapat berupa segala macam pelarut atau campuran beberapa macam pelarut.

Prinsip kromatografi adalah pemisahan campuran zat-zat kimia berdasarkan pada perbedaan migrasi dari masing-masing komponen campuran yang terpisahkan pada fase diam di bawah pengaruh pergerakan fase gerak. Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Poole & Salwa, 1991). Berikut ini merupakan penjelasan beberapa jenis kromatografi:

2.8.2.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan fisiokimia yang menggunakan fasa diam berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai penyangga untuk lapisan zat cair. Serbuk yang digunakan antara lain silika gel, selulosa, atau alumina. Fase diam sebagai zat penyerap berupa serbuk halus yang dilapiskan secara merata pada lempeng kromatografi yang berupa plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Fase diam yang biasa digunakan adalah silika gel. Umumnya silika gel ditambah dengan bahan pengikat untuk memberi kekuatan. Bahan pengikat yang sering digunakan adalah gipsum, maka dikenal dengan istilah silika gel G. Kadang-kadang untuk memudahkan identifikasi ditambahkan zat yang berfluoresensi sehingga disebut silika gel GF-254, selain itu juga bisa digunakan aluminium oksida, kieselgur, selulosa, dan turunannya.

Fasa gerak dapat berupa segala macam pelarut atau campuran beberapa pelarut. Sistem kerja pada KLT yaitu campuran yang akan dipisahkan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai kemudian ditotolkan berupa bercak atau noda pada lapisan dekat salah satu ujung. Selanjutnya lapisan dimasukkan ke dalam bejana pengembang yang berisi pelarut yang di dalamnya. Bejana tersebut ditutup pelarut dibiarkan 10-15 cm diatas totolan cuplikan (Gritter, *et al.*, 1991). Pelarut bergerak naik sepanjang lapisan tipis zat padat di atas lempengan, dan bersamaan dengan pergerakan pelarut tersebut, zat terlarut sampel dibawa dengan laju yang tergantung pada kelarutan zat tersebut dalam fasa gerak dan interaksinya dengan zat padat.

Perilaku senyawa di dalam sistem kromatografi dinyatakan dengan harga R_f . Selama proses pengembangan noda atau bercak yang telah dikembangkan tersebut akan menunjukkan harga R_f , yang didefinisikan sebagai rasio jarak noda terhadap titik awal dibagi jarak noda terhadap titik awal dibagi jarak eluen terhadap titik awal (Hostettmann, *et al.*, 1995)

2.8.2.2 Kromatografi Kolom Grafitasi (KKG)

Prinsip pemisahan kromatografi kolom berdasarkan distribusi kelarutan dan daya adsorpsi fasa diam dalam suatu kolom. Sampel diletakkan pada ujung atas kolom dan dielus dengan eluen yang sesuai secara kontinu ke dalam kolom. Dengan adanya gravitasi, maka eluen akan melewati kolom dan pemisahan akan terjadi (Pavia et al, 1990). Pada kromatografi kolom grafitasi diperlukan waktu elusi yang lebih lama karena eluen yang melewati kolom tidak menggunakan bantuan tekanan. Namun demikian proses pemisahan yang dihasilkan lebih baik. Oleh karena itu metode ini juga sering digunakan dalam proses pemurnian.

2.8.2.3 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi Cair Vakum merupakan salah satu jenis kromatografi kolom yang menggunakan alat vakum untuk mempercepat laju penurunan masing-masing spot atau noda. Pada sistem KCV, kolom kromatografi dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Sampel diletakkan pada bagian atas kolom dan dihisap perlahan-lahan dan dielus dengan campuran pelarut yang sesuai. Kolom dihisap sampai kering pada pengumpulan fraksi. Oleh karena itu, kromatografi cair vakum menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak (Hostettmann, *et al.*, 1995). Pada sistem KCV ini, fraksi-fraksi yang ditampung biasanya bervolume lebih besar dibandingkan dengan fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom biasa. Langkah pemisahan menggunakan sistem ini biasanya dilakukan pada tahap awal pemisahan.

2.8.3 Pemurnian

Senyawa bahan alam yang berbentuk padat hasil isolasi dari suatu tanaman sering terkontaminasi oleh pengotor meski kadang-kadang hanya dalam jumlah yang relatif kecil. Teknik umum yang sering digunakan untuk pemurnian senyawa tersebut adalah rekristalisasi yaitu salah satu pemurnian zat padat dari campurannya dengan cara mengkristalkan kembali zat tersebut setelah dilarutkan dalam pelarut yang cocok. Hal ini didasarkan pada perbedaan kelarutannya dalam

keadaan panas atau dingin dalam suatu pelarut. Pelarut yang digunakan bisa satu macam pelarut atau campuran dua pelarut.

Pemilihan pelarut yang tepat yaitu pelarut harus dapat melarutkan senyawa yang direkristalisasi dalam keadaan panas namun tidak melarutkan dalam keadaan dingin, tidak mudah bereaksi secara kimia dengan campuran yang akan dipisahkan komponen-komponennya, serta memiliki titik didih yang lebih rendah dari senyawa yang akan direkristalisasi. Penyaringan dilakukan dalam keadaan panas yang bertujuan untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang tidak larut dalam pelarut. Sedangkan pendinginan berfungsi untuk membentuk kristal-kristal, serta memisahkan kristal dari pengotornya (Kristanti, *et al.*, 2008).

Untuk menguji tingkat kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan penentuan titik leleh, dan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan sedikitnya tiga sistem eluen. Titik leleh merupakan suhu dimana fasa padat dari suatu zat berada dalam kesetimbangan dengan fasa cairnya. Suatu zat dikatakan murni apabila memiliki interval titik leleh $\pm 1^{\circ}\text{C}$ dan menunjukkan satu noda pada kromatografi lapis tipis (Singh, *et al.*, 1990).

2.9 Metode Spektroskopi

2.9.1 Spektrofotometer Serapan Ultraviolet dan Sinar Tampak (UV-Vis)

Spektrofotometer ultraviolet merupakan teknik analisis spektroskopi yang terjadi karena eksitasi molekul dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi setelah mengabsorpsi sinar tampak (Anderson, *et al.*, 2004). Spektrum UV-Vis juga disebut spektrum elektronik, karena terjadi sebagai hasil interaksi cahaya UV-Vis terhadap molekul tersebut mengalami transisi (Field, *et al.*, 2007).

Spektrum yang dihasilkan oleh radiasi (cahaya) dengan panjang gelombang 400-800 nm disebut sinar tampak sedangkan spektrum pada panjang gelombang 200-400 nm disebut spektrum ultraviolet. Setiap eksitasi elektron dapat memberikan informasi yang berbeda mengenai ikatan dalam sebuah molekul. Dalam senyawa organik, eksitasi elektron yang paling penting adalah $\pi \rightarrow \pi^*$, pada λ_{maks} 210–280 nm yang mengindikasikan adanya gugus kromofor yang berkonjugasi ($\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$), sedangkan eksitasi elektron $n \rightarrow \pi^*$, pada λ_{maks} 320–400 nm memberikan informasi mengenai adanya gugus heteroatom terkonjugasi, misalnya gugus karbonil yang

tersubstitusi pada suatu ena ($C=C-C=O$). Spektroskopi serapan ultraviolet dan tampak dapat digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Kedudukan gugus hidroksi fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan penambahan pereaksi geser.

2.9.2 Spektrofotometer Inframerah (IR)

Analisis senyawa dengan menggunakan spektrofotometri inframerah didasarkan pada vibrasi dari gugus fungsional dari suatu senyawa. Radiasi IR yang digunakan untuk analisis instrumental adalah radiasi IR yang rentang bilangan gelombangnya antara $4000-670\text{ cm}^{-1}$. Radiasi pada rentang 4000 hingga 1600 cm^{-1} disebut daerah gugus fungsi, sedangkan radiasi pada rentang antara $1600-670\text{ cm}^{-1}$ disebut daerah sidik jari (Anderson, *et al.*, 2004).

Radiasi yang diserap oleh molekul seperti $-OH$ dan $-NH$ terdapat pada daerah $3000-3700\text{ cm}^{-1}$, $C-C$ aromatik terdapat pada daerah $1450-1600\text{ cm}^{-1}$, $C=O$ pada daerah $1705-1750\text{ cm}^{-1}$, $C-H$ aromatik menghasilkan puncak pada gelombang $3000-3100\text{ cm}^{-1}$ disertai dengan keluarnya *overtone* pada panjang gelombang $2000-1650\text{ cm}^{-1}$ (Anderson, *et al.*, 2004).

Pengukuran spektrofotometer ini untuk mengenal struktur molekul antara lain $C-C$, $C-O$, $C-N$, $C=C$, $C=O$, $C=N$, $N=O$. Molekul yang menyerap radiasi inframerah menyebabkan amplitudo getaran atom-atom yang terikat sehingga molekul berada dalam keadaan vibrasi tereksitasi. Keadaan vibrasi dari ikatan terjadi pada keadaan tetap tingkat-tingkat energinya. Panjang gelombang dari absorpsi oleh suatu tipe ikatan tertentu bergantung pada macam getaran dari ikatan tersebut. Oleh sebab itu tipe ikatan berbeda-beda menunjukkan penyerapan radiasi inframerah pada panjang gelombang dengan karakteristik yang berbeda-beda pula. Daerah antara $1400-4000\text{ cm}^{-1}$ merupakan bagian kiri spektrum inframerah adalah daerah khusus untuk mengidentifikasi gugus fungsional. Bagian kanan spektrum inframerah seringkali yang dikenal dengan daerah sidik jari (Silverstein, *et al.*, 2005).

2.9.3 Spektroskopi NMR

Spektroskopi NMR didasarkan pada absorpsi radiasi elektromagnetik pada wilayah radio oleh inti-inti tertentu dalam molekul organik, apabila molekul ini berada dalam medan magnet yang kuat. Senyawa yang dipilih untuk titik rujukan adalah tetrametilsilana (TMS), $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ yang proton-protonnya menyerap pada ujung kanan dalam spektrum NMR. Absorpsi kebanyakan proton lain dijumpai di bawah medan absorpsi TMS (Anderson, *et al.*, 2004).

Dalam praktek, TMS ditambahkan langsung pada contoh dan *peak* TMS bersama dengan *peak-peak* absorpsi dari senyawa contoh diperoleh dalam spektrum. Selisih antara posisi absorpsi TMS dan posisi absorpsi suatu proton tertentu disebut geseran kimia (*chemical shift*).

Berdasarkan prinsip penggunaannya terdapat dua macam NMR yaitu NMR proton atau ^1H -NMR dan NMR karbon atau ^{13}C -NMR. Spektroskopi proton memberikan informasi struktural mengenai atom-atom hidrogen dalam sebuah molekul organik. Spektroskopi ^{13}C -NMR menghasilkan informasi mengenai karbon-karbon dalam sebuah molekul organik. Pada spektroskopi NMR proton, suatu proton dengan lingkungan tertentu memiliki pergeseran kimia yang tertentu pula. Harga pergeseran kimia proton-proton senyawa organik terjadi pada daerah 0-15 ppm. Spektroskopi NMR karbon juga memberikan spektrum posisi absorpsi karbon berdasarkan jenis ikatan yang menyusun senyawa tersebut, sehingga setiap atom karbon berlainan yang akan memberikan sinyal. Resonansi untuk ^{13}C -NMR berada di daerah 0-200 ppm. Spektroskopi resonansi magnetik nuklir (NMR) memberikan gambaran mengenai jenis atom, jumlah, maupun lingkungan atom hidrogen (^1H -NMR) maupun karbon (^{13}C -NMR) (Silverstein, *et al.* 2005).

“ Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat gelas (gelas kimia, gelas ukur, gelas vial kecil, gelas vial besar, erlenmeyer, dan corong kaca), bejana maserasi, chamber KLT, kaca arloji, pipet tetes, pipet kapiler, pinset, spatula, seperangkat alat penyaring Buchner, pompa vakum (Dreh Schieber Vakuum Pumpe DSEZ), *rotary vacuum evaporator* (Heidolph laborata 4001), timbangan digital, seperangkat alat kromatografi cair vakum, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, plat tetes, *Melting Point Electrothermal Apparatus*, penyemprot, spektrofotometer UV (Pharma spec-1700 Shimadzu), spektrofotometer IR (Buck 500 Scientific), Lampu UV 254 dan 366 nm, dan spektrometri NMR = Agilent 500 MHz untuk ^1H -NMR 500 MHz dan ^{13}C -NMR 125 MHz.

3.1.2. Bahan

Bahan yang akan digunakan untuk isolasi senyawa terdiri dari kulit batang *Artocarpus elasticus*, pelarut organik seperti n-heksana, metilen klorida, etil asetat, metanol, DMSO, NaOH, AlCl_3 , HCl, kertas saring Whatman 40, silika gel 60 (35-70 mesh) untuk kromatografi kolom, plat silika gel Merck 60 F₂₅₄ 0,25 mm ukuran 20 x 20 cm dengan aluminium sebagai fasa diam, plat silika gel Merck 60 F₂₅₄ 0,5 ukuran 20 x 20 cm dengan kaca sebagai penyangga fasa diam, pereaksi penampak noda serium sulfat ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$), 4-MU (Methylumbelliferyl) oleat, dan larutan lipase dalam buffer.

3.2. Persiapan Bahan

Kulit batang tumbuhan *A. elasticus*, yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini berasal dari Pulau Alor - NTT. Sebanyak 5 kg kulit batang yang telah kering digiling hingga menjadi serbuk halus dan siap untuk diekstraksi. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi dilakukan dengan menyiapkan 4 vial masing-masing diisi

5 ml pelarut n-heksana, metilen klorida, etil asetat, dan metanol sebanyak 2 g serbuk halus dimasukkan ke dalam masing-masing vial kemudian didiamkan selama 1 x 24 jam. Masing-masing ekstrak dimonitoring dengan KLT untuk mengetahui pelarut yang terbaik.

3.3. Isolasi dan Identifikasi

3.3.1. Isolasi Senyawa

3.3.1.1. Maserasi

Serbuk kulit batang *A. elasticus* (5 kg) dimaserasi dengan etil asetat selama 3x24 jam agar semua senyawa dapat terekstrak sempurna. Ekstrak etil asetat kemudian dipisahkan dengan rotary vacuum evaporator.

3.3.1.2. Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat

Sebelum dilakukan fraksinasi ekstrak etil asetat, perlu dilakukan uji pendahuluan terhadap ekstrak etil asetat dengan plat KLT menggunakan eluen tunggal dari yang non polar hingga ke eluen polar. Tujuan dari perlakuan ini adalah untuk menentukan eluen yang tepat untuk proses fraksinasi. Ekstrak etil asetat pekat (30 gram) difraksinasi dengan kromatografi cair vakum (KCV) dengan eluen metilen klorida 100%, etil asetat : metilen klorida (1:3) metanol : metilen klorida (2:8) dan metanol : metilen klorida (1:9) secara bergantian menggunakan kolom yang sama. Pengelompokan fraksi dilakukan pada fraksi-fraksi yang memiliki kemiripan nilai R_f dan pola noda pada monitoring KLT sehingga menghasilkan 6 fraksi gabungan (A-F). Fraksinasi dilakukan lebih lanjut terhadap fraksi gabungan B,C dan D dengan kromatografi cair vakum dengan eluen metanol : metilen klorida yang ditingkatkan kepolarannya (1; 2,5 dan 7,5%) menghasilkan 6 fraksi (A-E). Endapan yang dihasilkan dari fraksi D disaring kemudian dimurnikan dengan rekristalisasi menghasilkan senyawa 1. Fraksinasi lebih lanjut dilanjutkan terhadap fraksi E menggunakan kromatografi cair vakum dengan eluen etil asetat : heksana 10 %, 20% dan 30%. Fraksi-fraksi yang memiliki kemiripan nilai R_f dan pola noda yang sama pada monitoring KLT tersebut digabung sehingga didapatkan 6 fraksi gabungan (E1-E6). Fraksinasi dilakukan lebih lanjut terhadap fraksi gabungan E4 dan E5 dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan eluen 1% metanol

dalam metilen klorida : heksan 3 : 1 menghasilkan 4 fraksi gabungan (A-D). Endapan yang dihasilkan dari fraksi B disaring kemudian dimurnikan dengan rekristalisasi menghasilkan senyawa 2. Untuk mengetahui kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan uji KLT tiga eluen yang berbeda kepolarannya dan pengukuran titik leleh.

3.4. Uji Kemurnian dan Kelarutan

Uji kemurnian meliputi uji KLT tiga eluen dan pengukuran titik leleh. Uji KLT tiga eluen dilakukan dengan memonitor masing-masing kristal menggunakan tiga eluen yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Eluen yang digunakan untuk senyawa 1 adalah Etilasetat : metilen klorida (1:1) , metanol : metilen klorida (1:19) dan etil asetat : n heksan (1:3) Sedangkan untuk senyawa 2 eluen yang digunakan adalah etil asetat : n heksan (9:1), metanol : metilen klorida (4:6) dan etil asetat : metilen klorida (1:19). Senyawa diidentifikasi sebagai senyawa murni jika profil noda yang dihasilkan berupa noda tunggal pada plat KLT terhadap campuran eluen tersebut.

Titik leleh senyawa murni dilakukan dengan meletakkan butiran kecil senyawa pada lempengan kaca tipis (object glass) kemudian diletakkan pada alat pengukur titik leleh Fisher John Melting Point. Suhu pada alat dinaikkan perlahan-lahan sambil mengamati perubahan fisis yang terjadi pada senyawa. Indikator senyawa murni adalah memiliki delta titik leleh ± 1 .

Kelarutan sampel murni dilakukan dengan melarutkan kristal sampel dalam berbagai pelarut (n-heksana, metilen klorida, etil asetat dan metanol) kemudian diamati kelarutannya.

3.5. Penentuan Struktur

3.5.1. Spektroskopi UV

Kristal murni yang diperoleh diambil 1 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a dalam labu ukur 10 mL. Metanol p.a diambil 4 mL dan dimasukkan dalam kuvet yang digunakan sebagai blanko, kemudian larutan sampel diperlakukan dengan cara yang sama. Sampel diukur dengan spektrofotometer UV pada λ 200-450 nm. Kemudian larutan sampel ditambahkan dengan 3 tetes NaOH sebagai reagen geser untuk melihat pergeseran puncak pada spektrum dan diukur pada λ 200-450 nm. Reagen geser menggunakan AlCl_3 , HCl , digunakan juga untuk mendeteksi adanya substitusi orto hidroksi pada senyawa.

3.5.2. Spektroskopi IR

Analisa spektroskopi IR dilakukan dengan menggunakan peralatan spektrometer FT/IR. Sampel murni (± 1 mg) digerus sampai homogen dengan KBr, kemudian dipadatkan sehingga menjadi pelet dengan menggunakan alat pembuat pelet CARVER. Pelet sampel diletakkan di dalam tempat sampel (*sample cell*) pada alat. Kemudian diukur serapannya pada bilangan gelombang $800\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$.

3.5.3. Spektroskopi NMR

Analisa spektrum ^1H -NMR dilakukan dengan menggunakan spektrometer ^1H -NMR 90/500 MHz. Sampel murni (± 10 mg) dilarutkan dalam DMSO kemudian dimasukkan dalam tabung sampel (*sample tube*) dan diletakan dalam tabung pada alat, pergeseran kimia diukur pada 0-15 ppm. Ekspansi dilakukan pada bagian-bagian spektrum yang diperlukan untuk mengetahui secara detail pergeseran kimianya. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada analisis ^{13}C -NMR dengan pergeseran kimia diukur pada 0-220 ppm.

3.6. Uji Penghambat Lipase Pankreas

3.6.1 Uji Aktivitas Penghambat Lipase Pankreas

Aktivitas lipase pankreas diukur dengan menggunakan 4-MU (Methylumbelliferyl) oleat sebagai substrat (Nakaiet *et al.*, 2005). Sampel dengan konsentrasi 1; 0,2 dan 0,04 mg/mL (dalam DMSO) dan 10 ml 4-MU (dalam DMSO) dicampur dengan 40 ml buffer yang terdiri dari 13 mmol Tris-HCl, 150 mmol NaCl dan 1,3 mmol CaCl₂ (pH 8,0) dan 25 ml larutan lipase dalam buffer diatas kemudian ditambahkan untuk memulai reaksi enzim. Setelah inkubasi pada 37 °C selama 10 menit, jumlah 4-methylumbelliferone yang bebas dari lipase diukur dengan fluorometrical pada panjang gelombang 535 nm dan panjang gelombang emisi 595 nm. Orlistat digunakan sebagai kontrol positif dari inhibitor lipase pankreas.

“ Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Pendahuluan

Keberhasilan suatu proses ekstraksi dan pemisahan senyawa bahan alam ditentukan dengan uji pendahuluan pada setiap perlakuan. Pengujian bahan dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan *Artocarpus elasticus* dan menentukan pelarut yang sesuai untuk proses maserasi.



Keterangan:

1. Ekstrak *n*-heksana
2. Ekstrak metilen klorida
3. Ekstrak etil asetat
4. Ekstrak metanol

Gambar 4.1 Kromatogram KLT hasil uji pendahuluan dielusi dengan eluen etil asetat 100%

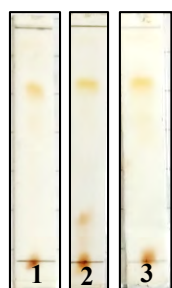
Kromatogram KLT uji pendahuluan pada Gambar 4.1 memperlihatkan adanya noda kuning berarti dalam ekstrak tersebut terdapat senyawa turunan flavonoid. Selain itu, berdasarkan data kromatogram KLT diatas juga memperlihatkan bahwa pelarut etil asetat dapat mengekstrak lebih banyak senyawa flavon dibandingkan pelarut organik lainnya. Oleh karena itu, pelarut etil asetat dinyatakan sesuai untuk proses ekstraksi senyawa flavon pada kulit batang tanaman *A. elasticus* dan akan dapat mengekstrak semua senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid.

4.2 Ekstraksi Kulit Batang *A. elasticus*

Kulit batang *A. elasticus* yang diambil dari pulau Alor - NTT, mula-mula dipotong kecil-kecil dan dikeringkan untuk menghilangkan kadar air dalam sampel tersebut. Sampel kering selanjutnya dihaluskan hingga menjadi serbuk halus untuk

memperluas permukaan, sehingga dihasilkan serbuk kering sebesar 5 kg. Serbuk kering tersebut diekstraksi menggunakan metode maserasi pada suhu kamar dengan pelarut etil asetat sebanyak 37 L selama 3x24 jam berturut - turut. Hasil ekstraksi setiap periode dimonitoring dengan kromatogram KLT (Gambar 4.2) dengan tujuan untuk mengetahui semua senyawa flavon telah terekstrak.

Ekstraksi dengan metode maserasi dipilih karena memiliki beberapa kelebihan yaitu praktis, dapat mengekstrak sampel dalam jumlah yang banyak dan tidak melibatkan pemanasan yang dapat menyebabkan terdekomposisinya senyawa-senyawa metabolit sekunder. Hasil dari proses maserasi ini adalah ekstrak padat sebanyak 190,4 g.



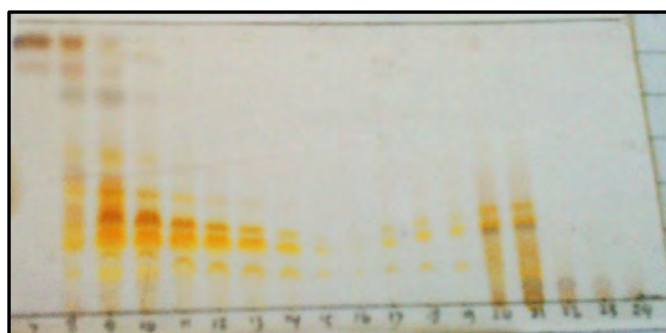
Keterangan:

1. Maserasi hari pertama (1x24 jam)
2. Maserasi hari kedua (1x24 jam)
3. Maserasi hari ketiga (1x24 jam)

Gambar 4.2 Kromatogram KLT hasil maserasi ekstrak etil asetat dengan eluen etil asetat : metilen klorida (1:1)

4.3 Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat

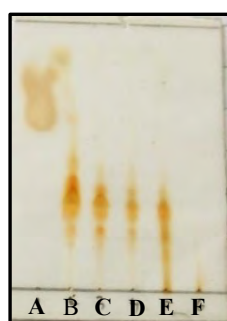
Fraksinasi dilakukan dengan kromatografi cair vakum (KCV) I dengan eluen metilen klorida 100%, etil asetat : metilen klorida (1:3) v/v , metanol : metilen klorida dan (2:8) v/v, metanol : metilen klorida (1:9) v/v berturut –turut. Hasil fraksinasi ditampung dalam botol vial 300 ml dan dimonitoring dengan plat KLT (Gambar 4.3). Pengelompokan fraksi dilakukan terhadap fraksi-fraksi yang memiliki kemiripan nilai Rf dan pola noda yang sama pada kromatogram KLT. Pengelompokan ini menghasilkan enam fraksi gabungan seperti pada Tabel 4.1 dan performa kromatogram KLT fraksi gabungan ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.3 Kromatogram KLT hasil pemisahan KCV I dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v

Tabel 4.1 Pengelompokan Fraksi Hasil Pemisahan KCV I

Fraksi	No. vial	Massa (gram)
A	1-7	4,0
B	8-10	13,0
C	11-13	6,0
D	14-19	1,7
E	20-21	1,7
F	22-24	1,0

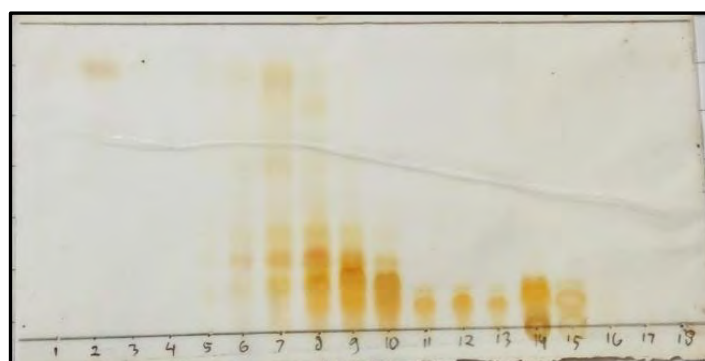


Gambar 4.4 Kromatogram KLT fraksi gabungan hasil pemisahan KCV I yang dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v

Berdasarkan hasil kromatogram KLT fraksi gabungan tersebut dapat dilihat proses pemisahan senyawa pada ekstrak etil asetat. Pada fraksi A merupakan kelompok fraksi yang terdiri dari senyawa-senyawa yang paling non polar. Sementara fraksi B, C, D, dan E, senyawa-senyawa yang terkandung terdistribusi secara merata. Sedangkan fraksi F terdiri dari beberapa senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang tinggi. Kromatogram KLT fraksi gabungan memperlihatkan

profil noda berwarna kuning yang intens pada fraksi B,C,D dan E, sehingga pada fraksi ini diperkirakan terdapat senyawa target flavon yang cukup banyak.

Fraksi B,C dan D (12 g) difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi cair vakum (KCV) II dan dielusi dengan metanol:metilen klorida yang ditingkatkan kepolarannya (1; 2,5 dan 7,5%). Hasil fraksinasi ditampung dalam botol vial 150 ml dan dimonitoring dengan plat KLT. Noda dideteksi di bawah lampu UV kemudian disemprot dengan penampak noda serum sulfat yang memperlihatkan kromatogram seperti pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Kromatogram KLT hasil pemisahan KCV II dielusi dengan metanol: metilen klorida (1:19) v/v

Fraksi-fraksi yang memiliki kemiripan R_f dan pola noda yang sama pada monitoring kromatogram KLT tersebut digabung, sehingga didapatkan enam fraksi gabungan seperti pada Tabel 4.2. Hasil monitoring keenam fraksi gabungan dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Tabel 4.2 Pengelompokan Fraksi Hasil Pemisahan KCV II

Fraksi gabungan	No. vial	Massa (gram)
A	1-3	0,4
B	4-9	3
C	10	2
D	11-13	0,7
E	14-15	2
F	16-18	0,2



Gambar 4.6 Kromatogram KLT fraksi gabungan KCV II yang dielusi dengan metanol: metilen klorida (1:19) v/v

Pada fraksi D setelah dibiarkan dalam suhu ruang terbentuk endapan pada dasar vial, endapan kemudian disaring vakum. Endapan tersebut larut dalam pelarut metanol, etil asetat dan larut dalam metilen klorida panas tetapi tidak larut dalam pelarut *n*-heksana. Endapan tersebut berwarna kuning yang di sebut senyawa **1** dengan berat 260 mg yang dimonitor dengan KLT seperti pada Gambar 4.7.

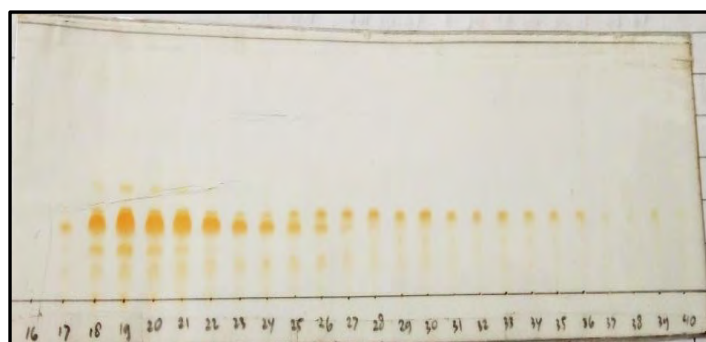


Keterangan :

- a. Endapan
- b. filtrat

Gambar 4.7 Kromatogram KLT fraksi D dielusi dengan metanol: metilen klorida (1:19) v/v

Fraksi E (2 g) difraksinasi lebih lanjut dengan KCV III menggunakan eluen etil asetat : heksana 10 %, 20% dan 30%. Hasil KCV tersebut menghasilkan 40 vial yang selanjutnya di monitoring KLT dengan eluen metanol : metilen klorida (1:19) v/v seperti pada Gambar 4.8.

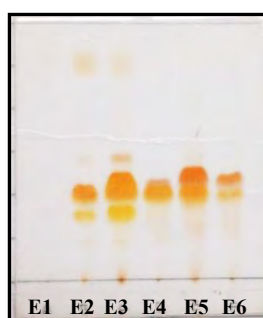


Gambar 4.8 Kromatogram KLT hasil pemisahan KCV III yang dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v

Fraksi-fraksi yang memiliki kemiripan nilai R_f dan pola noda yang sama pada kromatogram KLT, digabung sehingga didapatkan enam fraksi gabungan yang ditunjukkan pada Tabel 4.3. Monitoring fraksi gabungan ditunjukan pada Gambar 4.9.

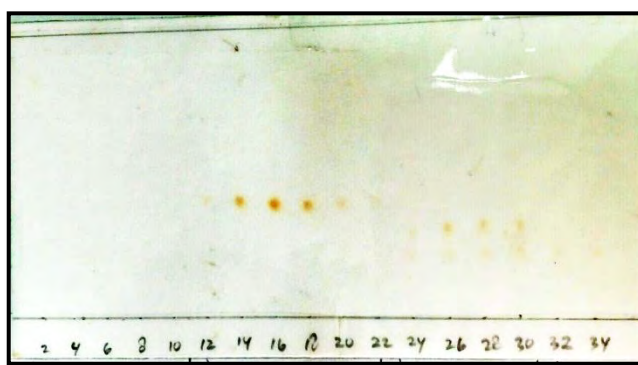
Tabel 4.3 Pengelompokan Fraksi Hasil Pemisahan KCV III

Fraksi gabungan	No. vial	Massa (gram)
E1	1-16	0,002
E2	17	0,015
E3	18-21	0,186
E4	22-27	0,157
E5	28-29	0,059
E6	30-40	0,173



Gambar 4.9 Kromatogram KLT fraksi gabungan KCV III dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19)

Keenam fraksi gabungan tersebut dari hasil kromatogram KLT menunjukkan masih banyak senyawa di dalamnya, sehingga perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut. Fraksi E4 dan E5 (232 mg) difraksinasi lagi KKG menggunakan eluen 1% metanol dalam metilen klorida : heksan (3:1) v/v. Hasil pemisahan menghasilkan 34 vial yang selanjutnya di monitoring KLT seperti pada Gambar 4.10.

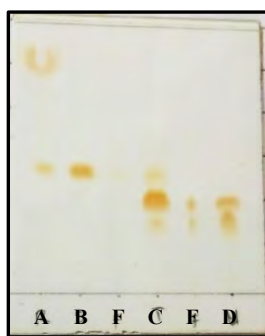


Gambar 4.10 Kromatogram KLT hasil pemisahan KKG yang dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v

Fraksi-fraksi yang memiliki kemiripan nilai R_f dan pola noda yang sama pada kromatogram KLT tersebut, digabungkan sehingga didapatkan empat fraksi gabungan seperti pada Tabel 4.4. Di mana pada fraksi B dan C terdapat endapan pada dasar vial sehingga di monitoring KLT dengan filtratnya juga. Monitoring fraksi gabungan terlihat pada Gambar 4.11.

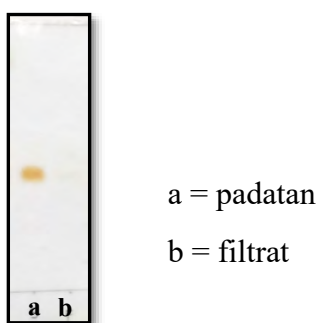
Tabel 4.4 Pengelompokan Fraksi Hasil Pemisahan KKG

Fraksi gabungan	No. vial	Massa (gram)
A	1-11	0,008
B	12-22	0,048
C	23-31	0,010
D	32-34	0,015



Gambar 4.11 Kromatogram KLT fraksi gabungan KKG dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v

Pada fraksi B terdapat endapan yang membentuk gumpalan yang semakin lama semakin memadati seluruh volum vial, endapan tersebut kemudian dicuci dengan n-heksana dan disaring vakum diperoleh padatan berwarna kuning yang disebut senyawa **2** (37 mg), yang dimonitoring KLT seperti pada Gambar 4.12. Padatan tersebut larut baik dalam pelarut metanol, etil asetat, metilen klorida panas, sementara dalam n-heksana tidak larut.



Gambar 4.12 Kromatogram fraksi B dielusi dengan metanol: metilen klorida (1:19) v/v

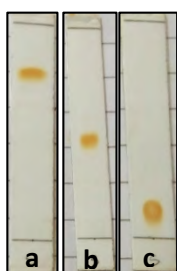
4.4. Pemurnian dengan Rekristalisasi dan Uji kemurnian

Berdasarkan uji kelarutan pada senyawa **1**, proses rekristalisasi menggunakan metilen klorida panas dan n-heksana. Endapan diletakkan dalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam metilen klorida sambil dipanaskan sampai semua terlarut. Setelah itu ditambahkan tetes demi tetes pelarut yang tidak melarutkan yaitu n-heksana sampai terjadi perubahan warna menjadi keruh. Perubahan keadaan ini menandakan bahwa larutan ini sudah dalam keadaan tepat jenuh atau telah

mencapai kesetimbangannya. Kemudian erlenmeyer ditutup rapat agar pelarut tidak menguap dan didinginkan. Pada keadaan tepat jenuh kelarutan suatu zat akan berkurang sehingga mudah terbentuk padatan. Padatan yang diperoleh berwarna kuning dengan massa 260 mg. Dengan menggunakan pelarut yang sama dilakukan pula pada senyawa **2** dengan massa 37 mg.

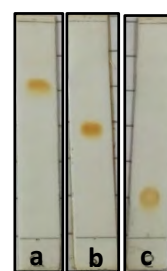
Masing-masing padatan hasil rekristalisasi tersebut diuji kemurniannya dengan uji titik leleh dan uji tiga eluen. Titik leleh merupakan suhu dimana fasa padat dari suatu zat berada dalam kesetimbangan dengan fasa cairnya. Parameter untuk menunjukkan kemurnian zat dengan prinsip pengaruh pengotor terhadap rentang titik leleh adalah $\pm 1^\circ\text{C}$. Senyawa **1** memiliki rentang titik leleh sebesar $143\text{--}145^\circ\text{C}$ sedangkan senyawa **2** memiliki rentang titik leleh sebesar $207\text{--}209^\circ\text{C}$.

Selain itu untuk mengetahui suatu senyawa telah murni, dapat dilihat profil noda tunggal pada kromatogram KLT dengan uji campuran tiga eluen yang berbeda dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk menghasilkan nilai R_f yang berbeda sebagaimana terlihat pada Gambar 4.13 untuk senyawa **1** dan Gambar 4.14 untuk senyawa **2**.



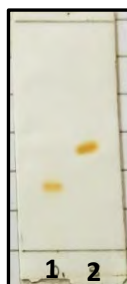
Gambar 4.13 Kromatogram KLT uji 3 eluen senyawa **1**

- a. Etilasetat : metilen klorida (1:1) v/v
- b. Metanol : metilen klorida (1:19) v/v
- c. Etilasetat : n heksan (1:3) v/v



Gambar 4.14 Kromatogram KLT uji 3 eluen senyawa **2**

- a. Etilasetat : n heksan (9:1) v/v
- b. Metanol : metilen klorida (4:6) v/v
- c. Etilasetat : metilen klorida (1:19) v/v



Gambar 4.15 Kromatogram KLT Senyawa **1** dan **2** dielusi dengan metanol : metilen klorida (1:19) v/v

4.5 Elusidasi Struktur

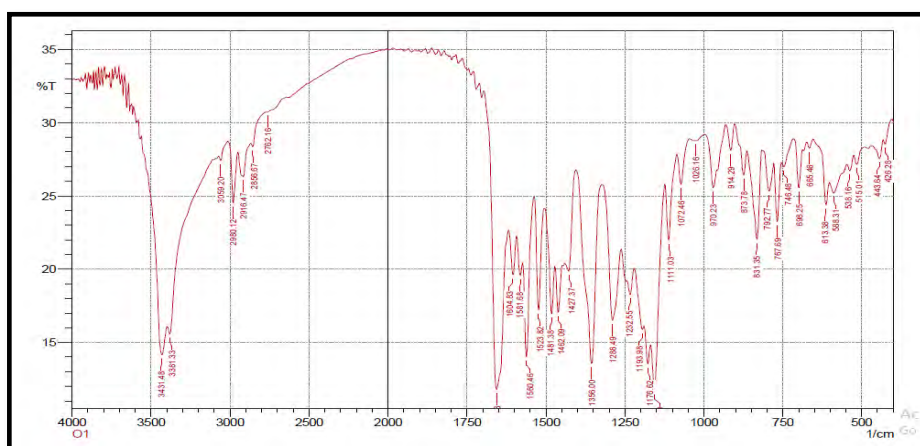
4.5.1. Elusidasi struktur senyawa **1**

Senyawa **1** diperoleh dalam bentuk padatan kuning dengan titik leleh 143-145 °C. Spektrum UV memperlihatkan serapan pada λ_{maks} 252 nm dan 356 nm. Serapan pada panjang gelombang 252 nm menunjukkan adanya transisi elektron dari $\pi - \pi^*$ yang mengindikasikan di dalam senyawa terdapat sistem ikatan rangkap terkonjugasi ($-\text{C}=\text{C}-\text{C}-$) atau aromatik. Serapan pada panjang gelombang 356 nm menunjukkan adanya transisi elektron dari $n - \pi^*$ yang mengindikasikan adanya sistem konjugasi heteroatom dengan karbon ikatan rangkap ($-\text{C}=\text{C}-\text{O}-$). Penambahan natrium hidroksida menyebabkan pita I mengalami pergeseran batokromik (10 nm) dari 356 nm ke 366 nm yang menunjukkan adanya gugus hidroksil bebas. Tetapi tidak mengalami pergeseran saat penambahan natrium asetat. Pada penambahan aluminium klorida menyebabkan pita I mengalami pergeseran batokromik dari 356 nm ke 419 nm dan pada penambahan asam klorida tidak ada pergeseran ke keadaan semula, yang menunjukkan bahwa senyawa **1** mempunyai gugus orto-hidroksi. Data serapan terlihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Serapan Spektrum UV Senyawa **1** Menggunakan Pereaksi Geser

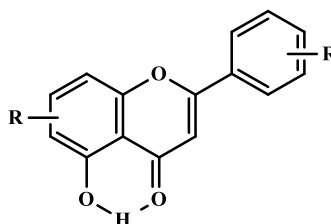
Pereaksi geser	Serapan maksimum (λ_{maks} (nm))	
	Pita II	Pita I
MeOH	252	356
MeOH + NaOH	253	366
MeOH + AlCl_3	252	419
MeOH + AlCl_3 + HCl	252	411

Spektrum IR senyawa **1** Gambar 4.15 diamati pada bilangan gelombang 3431 cm^{-1} dan 3381 cm^{-1} adalah karakteristik dari gugus hidroksil. Serapan pada 2980 cm^{-1} , 2856 cm^{-1} , 2762 cm^{-1} menunjukkan gugus C-H alifatik, penyerapan pada 1654 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil sedangkan pada serapan 1481 cm^{-1} , 1560 cm^{-1} dan 1604 cm^{-1} menunjukkan adanya C-H aromatik. Data UV dan IR tersebut menunjukkan bahwa senyawa **1** adalah suatu senyawa jenis flavon yang mengandung gugus orto-hidroksi pada cincin B.



Gambar 4.16 Spektrum IR Senyawa **1**

Dari data UV dan IR dapat disarankan bahwa senyawa **1** memiliki struktur dasar flavon dan terdapat gugus tersubstitusi gugus hidroksi, karbonil, gugus alkil (metoksi, prenil) dan orto hidroksi, seperti terlihat pada struktur berikut.



Struktur flavon tersubstitusi

Selanjutnya, penentuan struktur lengkap dari senyawa **1**, dilakukan pengukuran $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ dalam pelarut DMSO seperti pada Tabel 4.10. Dari $^1\text{H-NMR}$ terlihat 10 sinyal proton, menunjukkan minimal 10 jenis proton. Disamping itu $^{13}\text{C-NMR}$ memperlihatkan 25 sinyal karbon yang menunjukkan

minimal 25 jenis karbon. Memperhatikan saran hasil UV dan IR maka senyawa **1** adalah turunan flavon dengan 10 karbon tersubstitusi. Hal ini menunjukkan maksimal 2 gugus prenil atau 1 gugus prenil dengan 5 gugus karbon alkil lainnya.

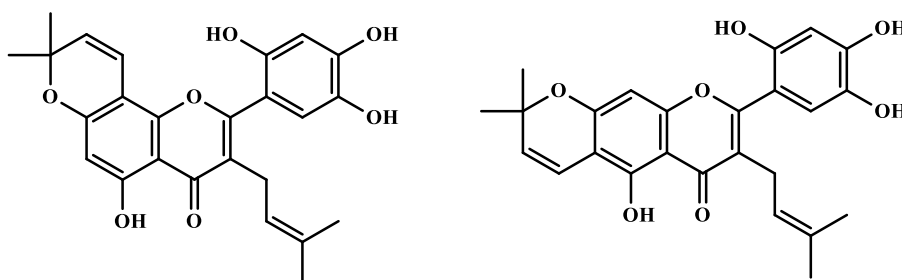
Tabel 4.6 Data ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR Senyawa **1** dalam DMSO

No	δH (ppm)	δC (ppm)
2		161,6
3		121,4
4		181,8
4a		104,2
5		160,9
6	6,20 (1H, s)	98,7
7		158,4
8		103,8
8a		151,7
9	3,02 (2H, J=6,7)	23,6
10	5,04 (1H, t)	109,0
11		131,3
12	1,55 (3H, s)	25,4
13	1,41 (3H, s)	17,3
14	6,50 (1H, d, J=10,0)	114,1
15	5,70 (1H, d, J=10,0)	127,6
16		78,0
17	1,40 (6H, s)	27,6
18		27,6
1'		116,0
2'		148,4
3'	6,45 (1H, s)	100,4
4'		148,7
5'		138,0
6'	6,68 (1H, s)	119,8

Data ^1H -NMR senyawa **1** pada Tabel 4.6 memperlihatkan adanya dua sinyal singlet pada δ 6,45 dan δ 6,68 (masing-masing 1H,s) yang merupakan sepasang proton aromatik yang khas untuk cincin B. Dengan adanya orto hidroksi dan memperhatikan senyawa flavon berdasarkan biogenesis pembentukan, bahwa cincin A adalah *tri*-oksigenasi yang selang-seling, maka gugus orto hidroksi terdapat pada cincin B. Adanya gugus prenil pada δ 1,40 dan δ 1,55 (masing – masing 3H), δ 3,02 (2H, d, J = 6,7 Hz) dan δ 5,04 (1H, m), menunjukkan bahwa

gugus prenil tersubstitusi pada C-3 yang khas untuk senyawa flavon pada spesies-spesies genus *Artocarpus*. Senyawa **1** juga memperlihatkan sinyal –sinyal yang khas untuk cincin kromen pada δ 1,40 (2 x 3H), δ 5,70 (1H, d, $J = 10,0$ Hz), δ 6,50 (1H, d) yang terhablur pada cincin A. Sinyal pada δ 6,20 (1H, s) sesuai untuk proton aromatik pada cincin A yang mengandung cincin kromen.

Selanjutnya data ^{13}C -NMR pada Tabel 4.6 memperlihatkan adanya satu karbon karbonil pada δ 181,8, satu oksikarbon pada δ 78,0, enam karbon metin pada δ 127,6, δ 121,4, δ 119,8, δ 114,1, δ 104,2 dan δ 100,4, satu karbon metilen pada δ 23,6 dan empat karbon metil pada δ 27,6 (2C), δ 25,4 dan δ 17,3. Dengan demikian, maka dapat disarankan kemungkinan dari data UV, IR dan ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa **1** disarankan sebagai struktur hipotesis dengan cincin kromen posisi angular dan linear, seperti pada struktur berikut.



Dari data tersebut dilakukan pembandingan dengan senyawa yang sudah dilaporkan. Ternyata dengan memperhatikan data pergeseran kimia dari senyawa **1**, identik dengan pergeseran kimia senyawa Artonin E (Jayasinghe, *et al*, 2008), yaitu cincin kromen terhablur dengan posisi angular, seperti terlihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Data Perbandingan ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR Senyawa 1 dengan Artonin E

Karbon	Senyawa 1		Artonin E	
	δH (ppm)	δC (ppm)	δH (ppm)	δC (ppm)
2		161,6		163,2
3		121,4		122,0
4		181,8		183,9
4a		104,2		105,9
5		160,9		162,7
6	6,20 (1H, s)	98,7	6.14 (1H, s)	100,1
7		158,4		160,5
8		103,8		102,2
8a		151,7		153,8
9	3,02 (2H, J=6,7)	23,6	3.11 (2H, J=7.0Hz)	24,9
10	5,04 (1H, t)	109,2	5.10 (1H, m)	122,6
11		131,3		133,3
12	1,55 (3H, s)	25,4	1.59 (3H)	25,9
13	1,41 (3H, s)	17,3	1,41 (3H, brs)	17,6
14	6,50(1H,d,J=10,0)	114,1	6.61(1H,d,J10.0Hz)	115,8
15	5,70 (1H, d,J=10,0)	127,6	5.59(1H, d, J 10.0Hz)	128,2
16		78,0		79,1
17	1,40 (6H, s)	27,6	1,43 (6H, s)	28,4
18		27,6	1,43 (6H, s)	28,4
1'		116,0		111,7
2'		148,4		150,1
3'	6,45 (1H, s)	100,4	6.45 (1H, s)	104,7
4'		148,7		150,0
5'		138,0		139,4
6'	6,68 (1H, s)	119,8	6,69 (1H, s)	117,2

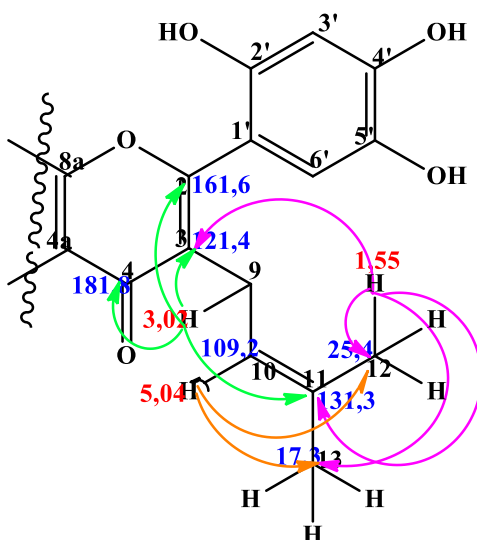
Pembuktian lebih lanjut untuk mengetahui posisi gugus prenil yang terhablur pada C-3 dan gugus kromen yang terhablur pada C-7 dan C-8 maka dibuktikan dengan NMR 2 dimensi yaitu DEPT-135 dan HMBC yang ditunjukkan pada Tabel 4.8. Dari data DEPT-135 dapat diketahui 1 gugus metilen, yang dapat memperkuat adanya gugus prenil, 6 gugus metin yang mana 2 pada cincin kromen, 1 pada cincin A, 2 pada cincin B dan 1 pada gugus prenil. Dan juga adanya 4 gugus metil yaitu 2 pada cincin kromen dan 2 pada gugus prenil. Ini sesuai dengan struktur hipotesis Artonin E.

Untuk mengetahui lebih jelas di mana gugus-gugus tersebut tersubstitusi pada kerangka dasar flavon maka digunakan NMR 2 dimensi HMBC.

Tabel 4.8 Data Korelasi HMBC Senyawa 1

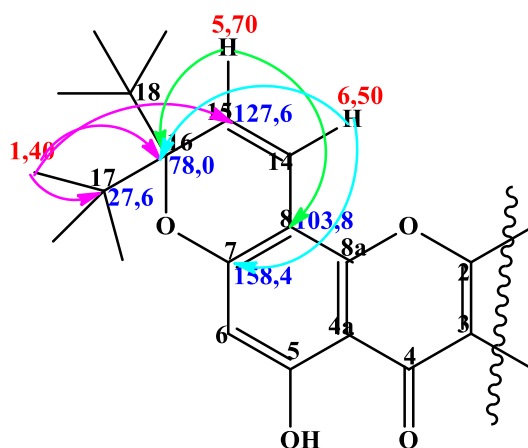
Karbon	DEPT ^{13}C	^1H (ppm)	Korelasi HMBC
2			
3	CH		
4			
4a			
5			
6	CH	6,20 (1H, s)	103,8; 104,2; 158,4; 160,9
7			
8	CH		
8a			
9	CH ₂	3,02 (2H, J=6,7)	119,8; 121,4; 131,3; 161,6; 181,8
10		5,04 (1H, t)	17,3; 25,4
11			
12	CH ₃	1,55 (3H, s)	17,3; 25,4; 121,4; 131,3
13	CH ₃	1,41 (3H, d)	
14	CH	6,50 (1H, d, J=10,0)	78,0; 158,4
15	CH	5,70 (1H, d, J=10,0)	78,0; 103,8
16			
17	CH ₃	1,40 (6H, d)	27,6; 78,0; 127,6
18	CH ₃		
1'	CH		
2'			
3'		6,45 (1H, s)	138,0; 148,7; 161,6
4'			
5'			
6'		6,68 (1H, s)	138,0; 148,4; 161,6

Berdasarkan data korelasi HMBC pada Tabel 4.8, menunjukkan adanya korelasi jarak jauh antara proton metilen pada δ 3,02 (H-9) dengan atom karbon C-6' (119,8), C-3 (121,4), C-11 (131,3), C-2 (161,6), C-4 (181,8), δ 5,04 (H-10) mempunyai korelasi jarak jauh dengan C-13 (17,3), C-12 (25,4) dan δ 1,55 (H-12) dengan atom karbon C-13 (17,3), C-12 (25,4), C-3 (121,4), C-11 (131,3) yang menunjukkan bahwa gugus prenil tersubstitusi pada C-3. Berdasarkan analisa korelasi tersebut, maka korelasi parsial 1 untuk senyawa 1 ditunjukkan pada Gambar 4.17.



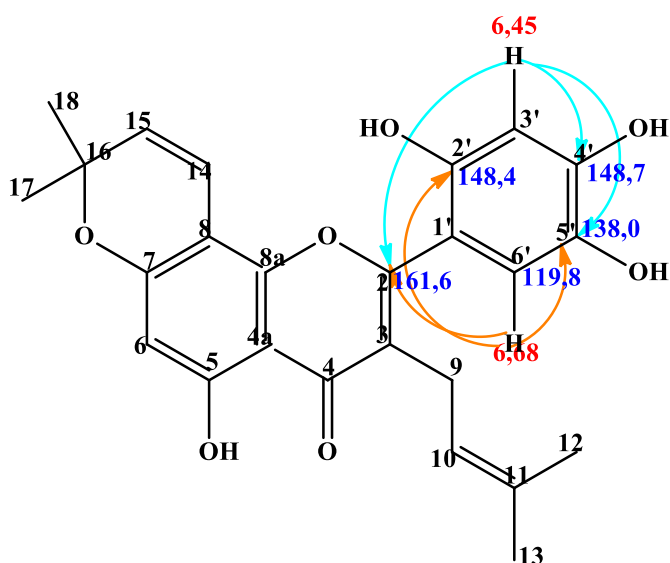
Gambar 4.17 Korelasi HMBC parsial 1 untuk senyawa **1**

Adapun pada δ 1,40 (H-13) memperlihatkan korelasi jarak jauh dengan atom-atom C-17 (27,6), C-16 (78,0), C-15 (127,6), δ 5,70 (H-15) mempunyai korelasi jarak jauh dengan atom-atom C-16 (78,0), C-8 (103,8), dan δ 6,50 (H-14) mempunyai korelasi jarak jauh dengan atom-atom C-16 (78,0), C-7 (158,4). Data tersebut membuktikan bahwa gugus kromen tersubstitusi pada C-8 dengan posisi angular, sehingga dapat digambarkan korelasi parsial 2 untuk senyawa **1** seperti pada Gambar 4.18.



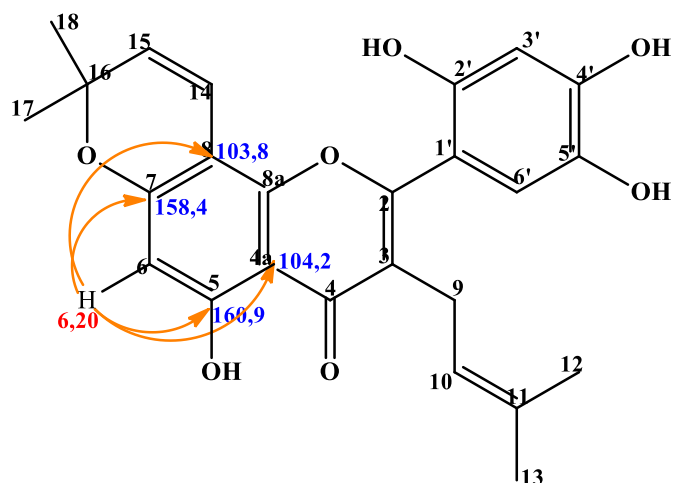
Gambar 4.18 Korelasi HMBC parsial 2 untuk senyawa **1**

Disamping itu, proton aromatik pada δ 6,45 (3') memperlihatkan korelasi jarak jauh dengan atom-atom C-5' (138,0), C-4' (148,7), C-2 (161,6), sedangkan proton aromatik pada δ 6,68 (H-6') memperlihatkan korelasi jarak jauh dengan atom-atom C-5' (138,0), C-2' (148,4), C-2 (161,6), yang menunjukkan gugus orto hidroksi pada cincin B. Korelasi parsial 3 untuk senyawa **1** ditunjukkan pada Gambar 4.19.



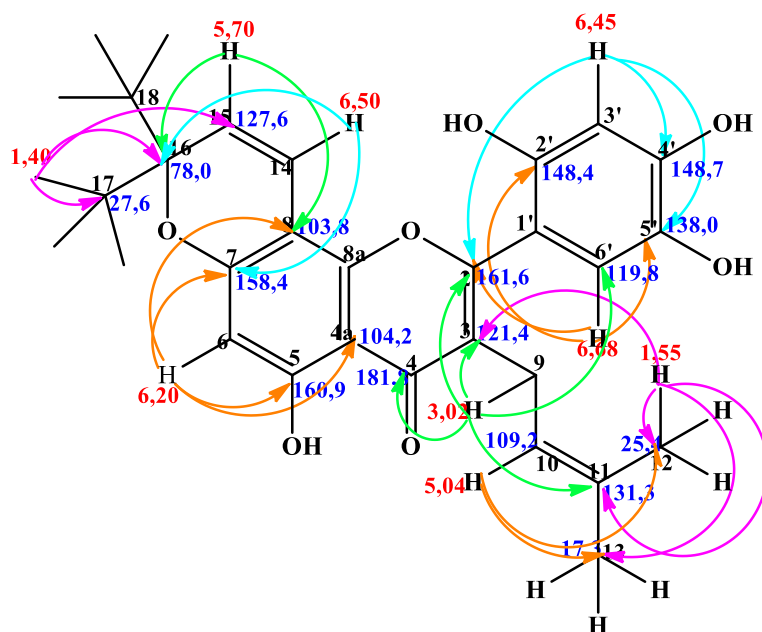
Gambar 4.19 Korelasi HMBC parsial 3 untuk senyawa **1**

Senyawa **1** juga menunjukkan adanya korelasi jarak jauh antara proton aromatik pada δ 6,20 (H-6) dengan atom-atom C-8 (103,8), C-4a (104,2), C-7 (158,4), C-5 (160,9) yang menunjukkan bahwa proton tersebut berada pada cincin A. Berdasarkan analisa korelasi tersebut, maka korelasi parsial 4 untuk senyawa **1** ditunjukkan pada Gambar 4.20.



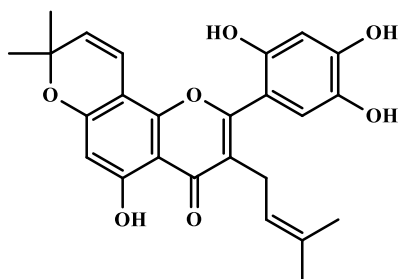
Gambar 4.20 Korelasi HMBC parsial 4 untuk senyawa **1**

Dengan demikian, dari korelasi HMBC menunjukkan gugus prenil tersubstitusi pada posisi C-3, cincin kromen tersubstitusi pada posisi C-8 dan gugus orto hidroksi pada cincin B. Dari beberapa korelasi parsial senyawa **1** maka diperoleh korelasi HMBC senyawa **1** pada Gambar 4.21.



Gambar 4.21 Korelasi HMBC senyawa **1**

Berdasarkan data korelasi HMBC yang diperoleh, maka struktur senyawa **1** diberi nama Artonin E dengan struktur sebagai berikut :



(1)

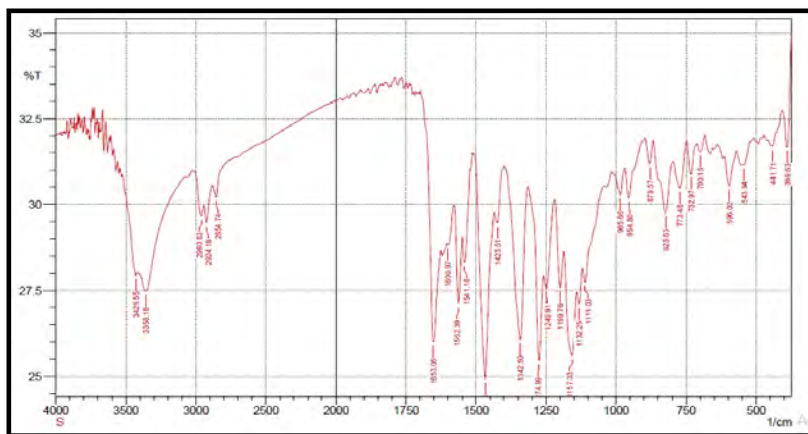
4.5.2. Elusidasi struktur senyawa 2

Senyawa **2** diperoleh dalam bentuk padatan kuning dengan titik leleh 207 – 209 °C. Spektrum UV memperlihatkan serapan pada λ_{maks} 298 nm dan 393 nm. Serapan pada panjang gelombang 298 nm menunjukkan adanya transisi elektron dari $\pi - \pi^*$ yang mengindikasikan di dalam senyawa terdapat sistem ikatan rangkap terkonjugasi ($-C=C-C-$) atau aromatik. Serapan pada panjang gelombang 393 nm menunjukkan adanya transisi elektron dari $n - \pi^*$ yang mengindikasikan adanya sistem konjugasi heteroatom dengan karbon ikatan rangkap ($-C=C-O-$). Penambahan natrium hidroksida menyebabkan pita I mengalami pergeseran batokromik (54 nm) dari 393 nm ke 439 nm yang menunjukkan adanya gugus hidroksil bebas. Penambahan pereaksi geser aluminium klorida memperlihatkan pergeseran batokromik pita I (45 nm) dari λ_{maks} 393 nm ke 429 nm, tetapi tidak mengalami pergeseran saat penambahan asam klorida. Data serapan terlihat pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9 Serapan Spektrum UV Senyawa **2** Menggunakan Pereaksi Geser

Pereaksi geser	Serapan maksimum (λ_{maks} (nm))	
	Pita II	Pita I
MeOH	298	393
MeOH + NaOH	295	439
MeOH + AlCl_3	299	429
MeOH + AlCl_3 + HCl	300	426

Spektrum IR senyawa **2** pada Gambar 4.22, diamati pada bilangan gelombang 3429 cm^{-1} dan 3358 cm^{-1} adalah karakteristik dari gugus hidroksil. Gugus C-H alifatik pada 2960 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} . Gugus karbonil terkelasi pada 1654 cm^{-1} , dan cincin aromatik pada serapan 1481 cm^{-1} , 1560 cm^{-1} dan 1604 cm^{-1} .



Gambar 4.22 Spektrum IR Senyawa **2**

Dari data UV dan IR dapat disarankan bahwa senyawa **2** memiliki struktur dasar flavon dan terdapat gugus tersubstitusi gugus hidroksi, karbonil, gugus alkil (metil, prenil) dan orto hidroksi. Didasarkan pada data senyawa **1** maka relatif sama.

Untuk itu dilakukan pengukuran $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ dalam pelarut DMSO seperti pada Tabel 4.10. Pembahasan terhadap $^1\text{H-NMR}$ dapat memperlihatkan 12 sinyal proton dan 25 sinyal karbon pada senyawa **2**. Dengan data itu berarti ada kehilangan 2 proton dari senyawa **1**. Sehingga struktur senyawa **2** adalah turunan dari senyawa **1**.

Tabel 4.10 Data ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR Senyawa **2** dalam DMSO

No	δH (ppm)	δC (ppm)
2		160,7
3		98,8
4		179,8
4a		104,0
5	13,37 (1H, s)	151,0
6	6,16 (1H, s)	98,8
7		160,5
8		100,6
8a		157,9
9	3,12, 3,08 (1H, dd, J=21,8)	19,3
10	2,28 (1H, t, J = 10,0)	46,0
11		92,4
12	1,59 (3H, s)	22,5
13	1,24 (3H, s)	27,9
14	6,82 (1H, d, J=10,0)	114,5
15	5,74 (1H, d, J=10,0)	127,4
16		78,0
17	1,43 (6H, s, 2 x CH ₃)	27,7
18		27,7
1'		111,0
2'	9,83 (1H, s)	150,5
3'	6,28 (1H, s)	102,8
4'	10,16 (1H, s)	146,5
5'		136,2
6'		132,2

Data ^1H -NMR senyawa **2** memperlihatkan sinyal – sinyal pada δ 1,59 dan δ 1,24 (masing-masing 3H, s) dan proton untuk sistem ABX pada δ 2,28 (1H, t, J = 10,0), δ 3,12, δ 3,08 (1H, dd, J=21,8). Sinyal untuk dua gugus metil dan sinyal untuk sistem ABX ini menunjukkan adanya gugus isoprenoid pada C-3 kerangka flavon, dengan susunan sama seperti yang ditemukan pada turunan furano-dihidrobenzosanton (Sultanbawa, 1989). Senyawa **2** juga memperlihatkan sinyal-sinyal pada δ 1,43 (6H, s, 2 x CH₃), δ 5,74 (1H, d, J=10,0) dan δ 6,82 (1H, d, J=10,0) yang merupakan ciri khas untuk 2,2-dimetilkromen. Sinyal lain pada spektrum ^1H -NMR menunjukkan pula adanya dua singlet aromatik pada δ 6,28 (1H, s) dan δ 6,16 (1H, s).

Selanjutnya data ^{13}C -NMR senyawa **2** juga memperlihatkan adanya resonansi yang terpisah untuk 25 atom karbon, termasuk di antaranya dua oksikarbon kuartener pada δ 92,4 dan 78,0, satu karbonil pada δ 179,8, lima karbon metin pada δ 127,4, δ 114,5, δ 104,0, δ 98,9 dan δ 46,0, satu karbon metilen pada δ 19,3 dan empat karbon metil pada δ 27,9, δ 27,7, δ 27,7 dan δ 22,5. Data ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR yang diperoleh pada senyawa **2** memiliki kemiripan dengan data senyawa sikloartobilosanton yang ditemukan dari kulit batang *Artocarpus kemando* (Najihah, *et al.*, 2011) seperti pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11 Data Perbandingan ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR Senyawa **2** dengan Sikloartobilosanton

Posisi	Senyawa 2		Sikloartobilosanton	
	δH (ppm)	δC	δH (ppm)	δC (ppm)
2		160,7		160,6
3		98,8		99,1
4		179,8		180,6
4a		104,0		104,1
5	13,37 (1H, s)	151,0	13,37 (1H, s)	151,2
6	6,16 (1H, s)	98,8	6,13 (1H, s)	101,0
7		160,5		161,8
8		100,6		104,4
8a		157,9		158,7
9	3,12, 3,08 (1H, dd, J=21,8)	19,3	3,44, 3,23 (1H, dd, J=8,0, 16,0)	19,5
10	2,28 (1H, t, J = 10,0)	46,0	2,40 (1H, t, J=16,0)	46,7
11		92,4		92,9
12	1,59 (3H, s)	22,5	1,65 (3H, s, CH ₃)	22,0
13	1,24 (3H, s)	27,9	1,32 (3H, s, CH ₃)	27,6
14	6,82 (1H, d, J=10,0)	114,5	6,93 (1H, d, J=12,0)	115,1
15	5,74 (1H, d, J=10,0)	127,4	5,68 (1H, d, J=12,0)	127,1
16		78,0		77,9
17	1,43 (6H, s, 2 x CH ₃)	27,7	1,49 (6H, s, 2 x CH ₃)	27,4
18		27,7		27,4
1'		111,0		111,9
2'	9,83 (1H, s)	150,5	8,73 (1H, s)	150,7
3'	6,28 (1H, s)	102,8	6,41 (1H, s)	104,5
4'	10,16 (1H, s)	146,5	8,89 (1H, s)	146,1
5'		136,2		137,1
6'		132,2		132,9

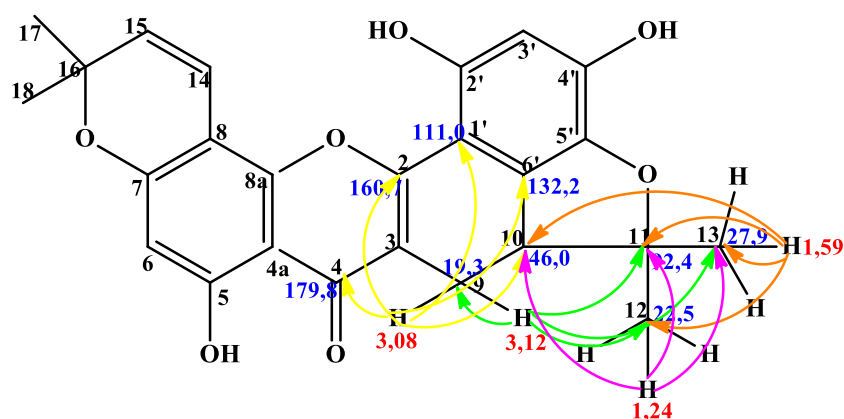
Pembuktian lebih lanjut mengenai gugus-gugus tersebut tersubstitusi, maka dilakukan analisis lebih lanjut dengan pengukuran NMR dua dimensi yaitu DEPT-135 dan HMBC yang ditunjukkan pada Tabel 4.12. Dari data DEPT dapat diketahui 1 gugus metilen, 5 gugus metin yang mana 2 gugus pada cincin kromen, 1 gugus pada cincin A, 1 gugus pada cincin B dan 1 gugus pada cincin D. Dan juga adanya 4 gugus metil yaitu 2 gugus pada cincin kromen dan 2 gugus pada cincin furan.

Tabel 4.12 Data Korelasi HMBC Senyawa **2**

Karbon	DEPT ^{13}C	^1H (δ_{H} ppm)	Korelasi HMBC
2			
3			
4			
4a	CH		
5		13,37 (1H, s)	98,8; 104,0; 160,7
6	CH	6,16 (1H, s)	100,6; 104,0; 157,9; 160,5
7			
8			
8a			
9	CH ₂	3,12 (1H, dd, J=21,8)	19,3; 22,5; 27,9; 92,4; 132,2
		3,08 (1H, dd, J=21,8)	46,0; 111,0; 132,2; 160,7; 179,8
10	CH	2,28 (1H, t, J = 10,0)	46,0; 92,4; 111,0; 132,2; 160,7
11			
12	CH ₃	1,59 (3H, s)	22,5; 27,9; 46,0; 92,4
13	CH ₃	1,24 (3H, s)	27,9; 46,0; 92,4
14	CH	6,82 (1H, d, J=10,0)	78,0; 100,6; 151,0; 157,9
15	CH	5,74 (1H, d, J=10,0)	27,7; 78,0; 100,6
16			
17	CH ₃	1,43 (6H, s, 2 x CH ₃)	
18	CH ₃	1,43 (6H, s, 2 x CH ₃)	
1'			
2'		9,83 (1H, s)	100,6; 102,8; 151,0
3'		6,28 (1H, s)	102,8; 136,2; 146,5; 150,5
4'			
5'			
6'			

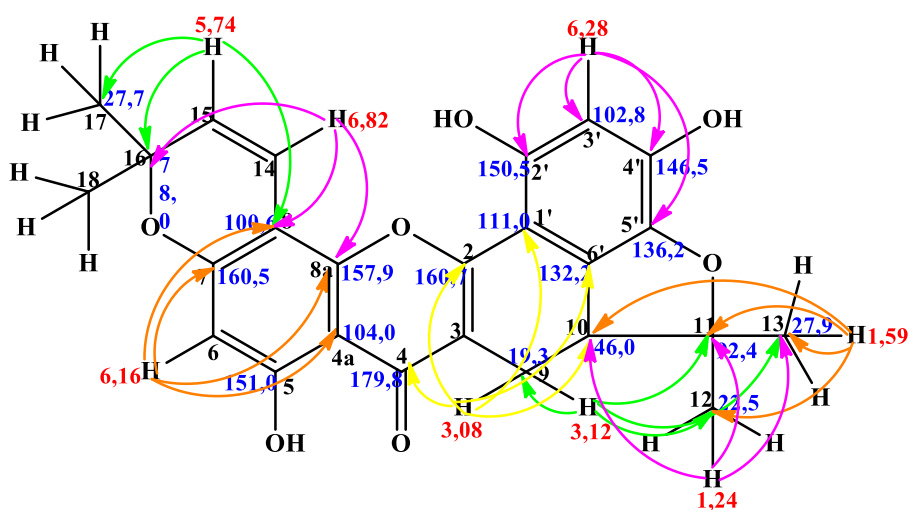
Untuk mengetahui lebih jelas di mana gugus-gugus tersebut tersubstitusi pada kerangka dasar flavon maka digunakan NMR 2 dimensi HMBC. Data HMBC senyawa **2** relatif sama dengan senyawa **1** pada korelasi HMBC parsial 2,3 dan 4. Yang membedakan antara senyawa **1** dan **2** yaitu pada korelasi HMBC

parsial 1 untuk senyawa **1**. Dimana, pada senyawa **2** hilangnya gugus prenil pada C-3 sehingga terbentuk kerangka santon dan cincin furan. Data HMBC menunjukkan adanya korelasi jarak jauh antara proton pada δ 2,28 (H-10) dengan atom karbon C-10 (46,0), C-11 (92,4), C-1' (111,0), C-6' (132,2), C-2 (160,7), korelasi jarak jauh antara proton pada δ 3,08 (H-9a) dengan atom karbon C-10 (46,0), C-1' (111,0), C-6' (132,2), C-2 (160,7), C-4 (179,8), korelasi jarak jauh antara proton pada δ 3,12 (H-9b) dengan atom karbon C-9 (19,3), C-11 (92,4), C-12 (22,5), C-13 (27,9), C-6' (132,2), korelasi jarak jauh antara proton pada δ 1,59 (H-12) dengan karbon C-12 (22,5), C-13 (27,9), C-10 (46,0), C-11 (92,4), dan korelasi jarak jauh antara proton pada δ 1,24 (H-13) dengan karbon C-13 (27,9), C-10 (46,0), C-11 (92,4), yang menunjukkan susunan cincin D yang tersubstitusi pada cincin C melalui C-2 dan C-3 dan pada cincin B melalui C-6', sedangkan cincin furan tersubstitusi melalui atom oksigen pada C-5' dan atom C- γ gugus isoprenil yang tersubstitusi pada C-3.



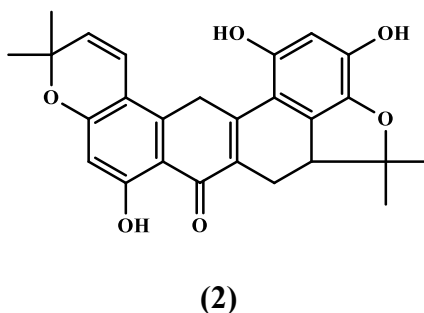
Gambar 4.23 Korelasi HMBC parsial 1 senyawa **2**

Berdasarkan korelasi parsial senyawa (**2**) maka diperoleh korelasi HMBC senyawa (**2**) pada Gambar 4.24.



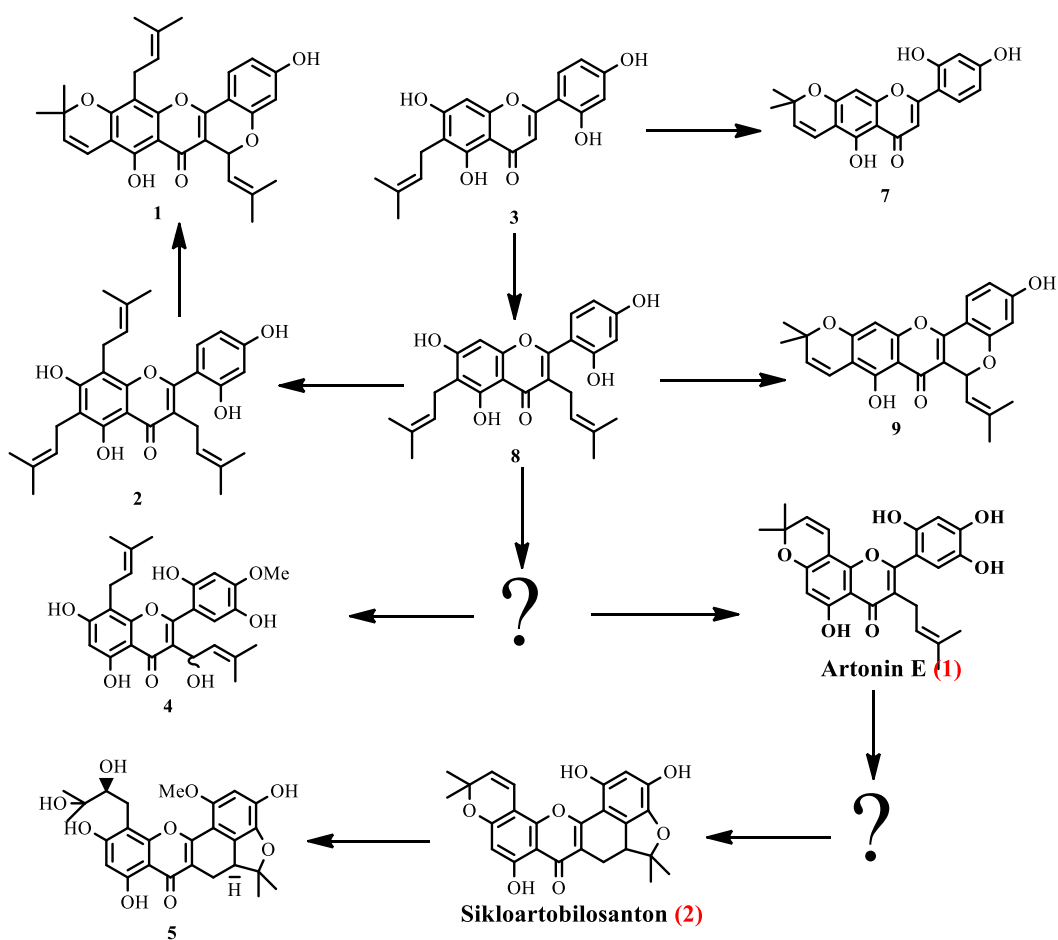
Gambar 4.24 Korelasi HMBC senyawa 2

Dengan demikian, maka struktur senyawa 2 diberi nama Sikloartobilosanton dengan struktur sebagai berikut :



Berdasarkan mapping senyawa turunan flavonoid terprenilasi dari *Artocarpus elasticus* yang terlihat pada Gambar 4.25, maka di hasilkan dua senyawa yaitu Artonin E (1) dan sikloartobilosanton (2). Dimana senyawa Artonin E merupakan senyawa yang baru pertama kali ditemukan pada *Artocarpus elasticus* sedangkan senyawa sikloartobilosanton sudah ditemukan pada *Artocarpus elasticus* (Lin *et al.*, 2008).

Oleh karena itu, pada penelitian ini belum ditemukan perbedaan senyawa yang dihasilkan dari tanaman *Artocarpus elasticus* asal Pulau Alor – Nusa Tenggara Timur dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan tanaman ini dari daerah lain. Akan tetapi masih berpeluang untuk mendapatkan senyawa baru yang berbeda dari fraksi- fraksi yang lain.

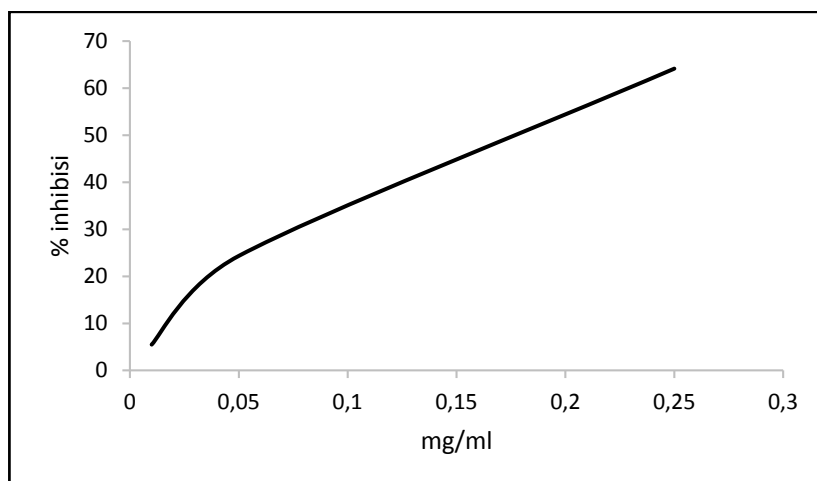


Gambar 4.25 Mapping senyawa turunan flavonoid terpenilasi dari *Artocarpus elasticus*

4.6 Aktivitas Penghambat Lipase Pankreas senyawa 1 dan 2

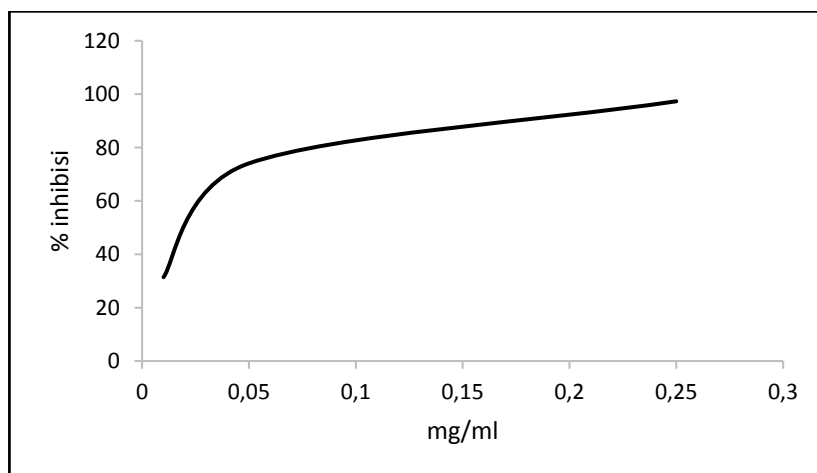
Penentuan aktivitas lipase pankreas dilakukan dengan menggunakan 4-MU (Methylumbelliferyl) oleat sebagai substrat. Orlistat digunakan sebagai kontrol positif dari inhibitor lipase pankreas. Aktivitas penghambat lipase pankreas diukur melalui pengukuran intensitas serapan menggunakan spektrofotometric pada panjang gelombang 535 nm. Dimana pada panjang gelombang ini senyawa yang bereaksi dengan 4-MU (Methylumbelliferyl) oleat menghasilkan warna hijau.

Pada penelitian ini dilakukan uji terhadap senyawa 1. Hasil uji menunjukkan data absorbansi dengan variasi konsentrasi yang diperoleh kemudian dihitung persen inhibisinya.



Gambar 4.26 Aktivitas penghambat lipase pankreas oleh Senyawa **1**

Setelah diperoleh prosentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, persamaan $y = Mx + C$ ditentukan dengan perhitungan secara regresi linear sebagaimana terlihat pada Gambar 4.26. nilai IC_{50} diperoleh dengan menginterpolasikan nilai $y = 50$ pada tiap ulangan dan dirata-rata diperoleh IC_{50} 56.23 μ M terhadap senyawa **1**.



Gambar 4.27 Aktivitas penghambat lipase pankreas oleh Senyawa **2**

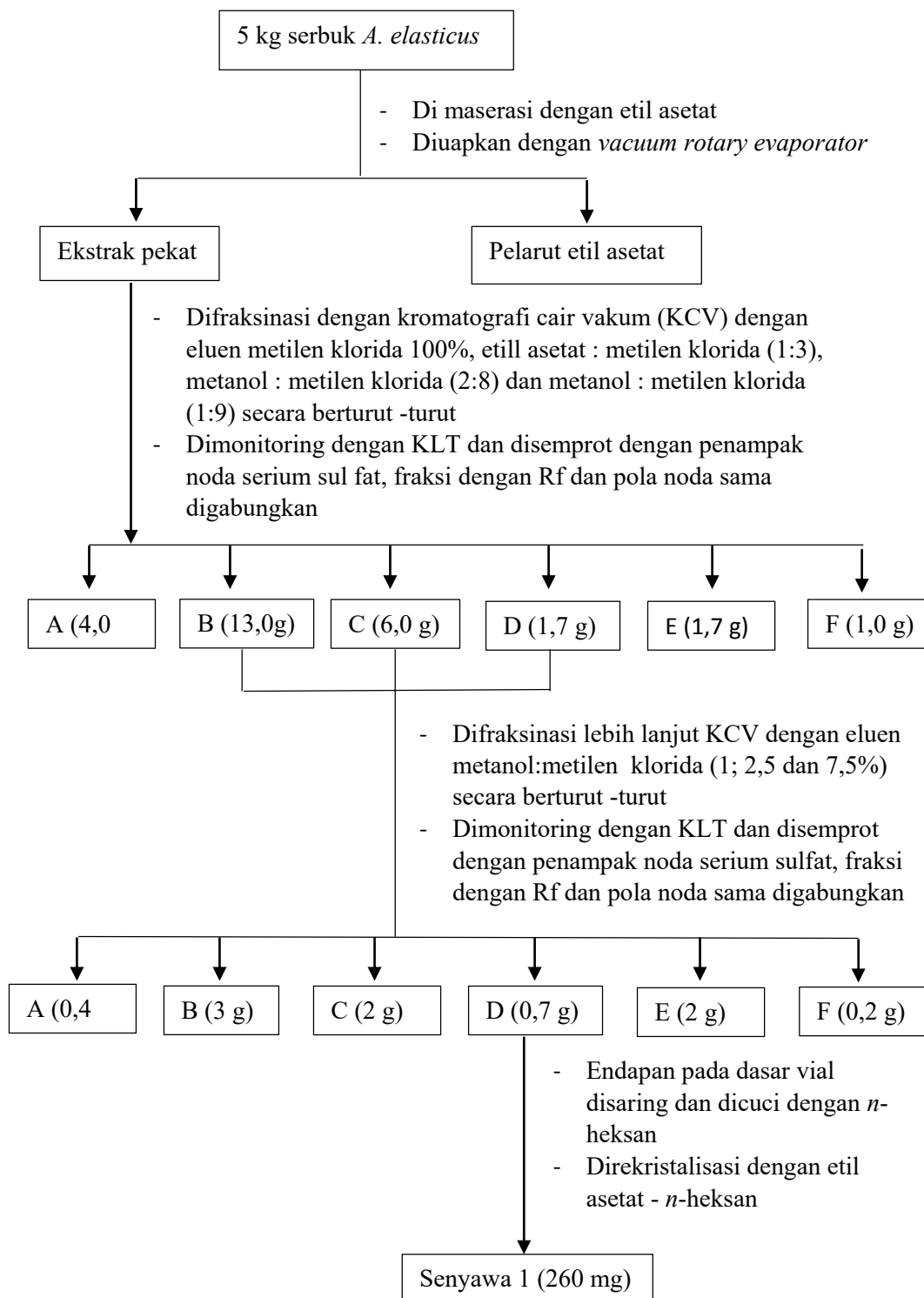
Data absoransi senyawa **2** terhadap konsentrasi yang diperoleh, juga dihitung persen inhibisinya menggunakan rumus yang sama. Hasil perhitungan sebagaimana terdapat pada kurva regresi linear yang ditunjukkan pada Gambar 4.27. berdasarkan perhitungan, diperoleh nilai IC_{50} 424.99 μ M terhadap senyawa **2**.

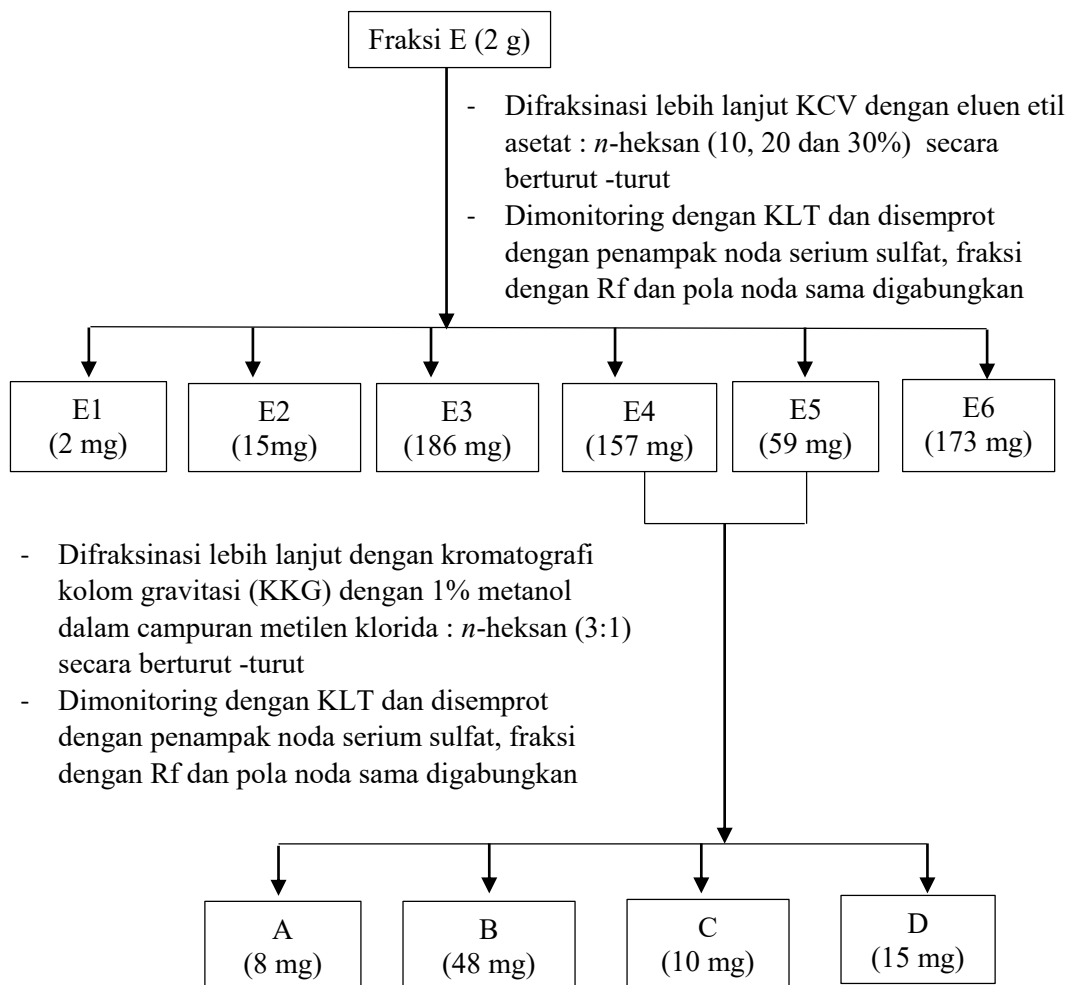
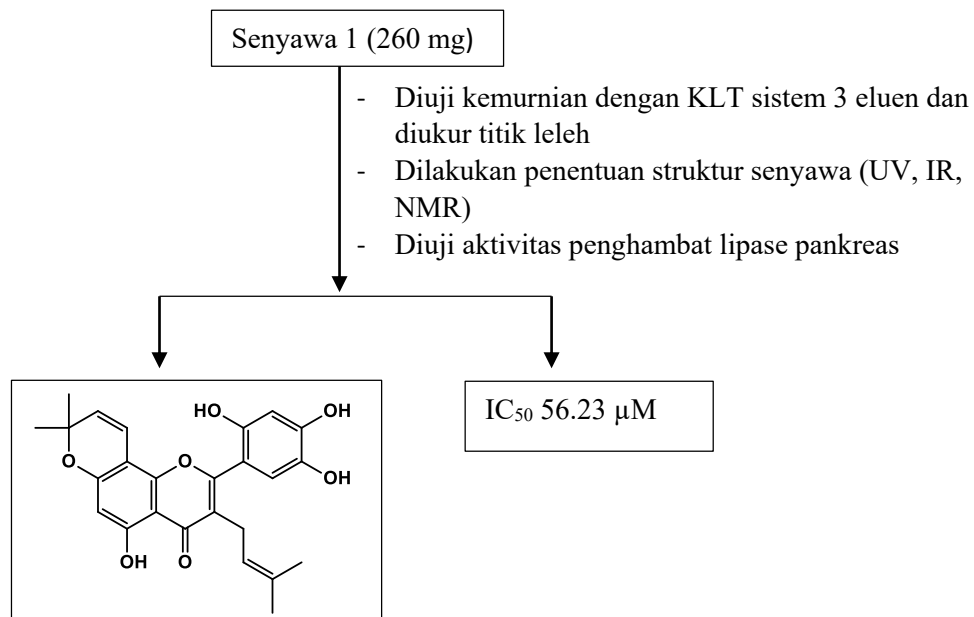
Pengujian aktivitas penghambat lipase pankreas terhadap senyawa **1** dan senyawa **2** menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut memberikan aktivitas penghambat yang lemah. Aktivitas penghambat lipase pankreas senyawa **1** (IC_{50} 56.23 μ M) lebih tinggi daripada senyawa **2** (IC_{50} 424.99 μ M). Namun bila dibandingkan dengan kontrol positif orlistat (IC_{50} 50% 0.08 μ M), kedua senyawa tersebut memiliki aktivitas penghambat yang lemah.

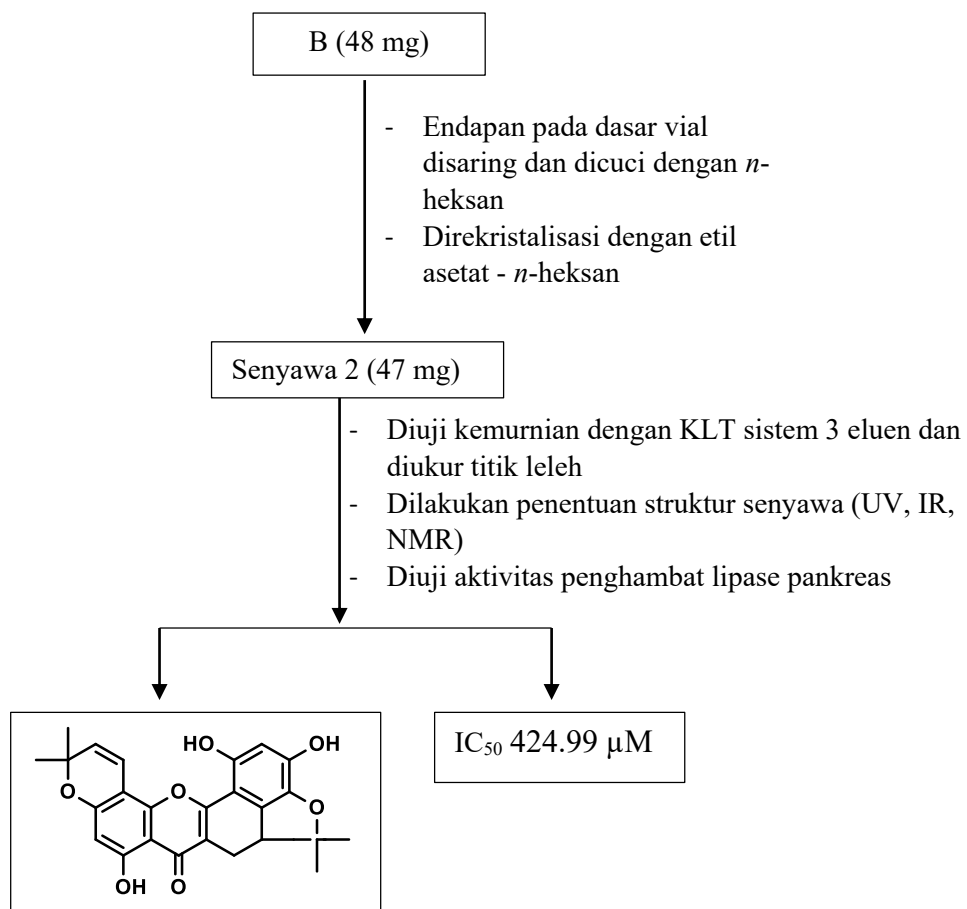
LAMPIRAN

Lampiran 1

Skema kerja pemisahan dan pemurnian

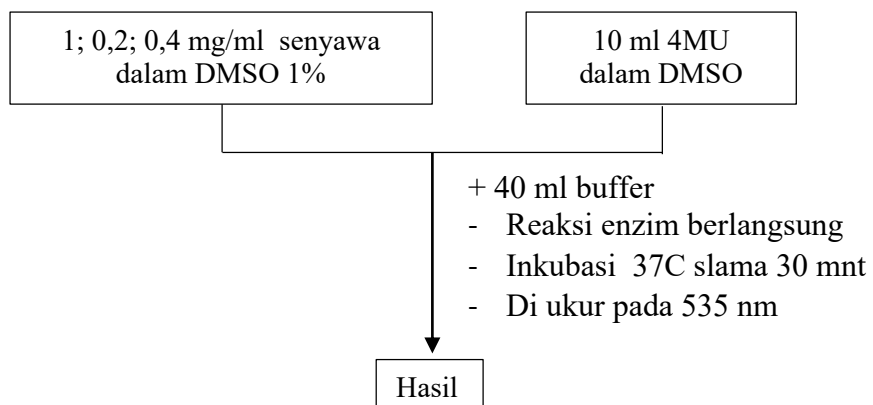






Lampiran 2

Skema Kerja Aktivitas Penghambat Lipase Pankreas



Lampiran 3

Data perhitungan IC₅₀ Senyawa 1 dan Senyawa 2

Orlistat						
C (mg/ml)	Absorbansi			%Inhibisi = $A_0 - A_1 / A_0 \times 100\%$	IC50 (mg/mL)	IC50 μM
	54,292	56,169	58,615	A0 = 46,24067	4,13603E-05	0,083432
0,000006	53,181	53,789	47,314	8,881071496		
0,00003	46,868	48,085	44,375	21,02045818		
0,000149	31,761	37,268	33,764	45,47368118		
Artonin E						
	54,86	55,218	39,065	A0 = 38,98433333	0,184558196	424,9915
0,04	51,086	52,916	48,292	5,506486		
0,2	41,297	42,077	34,102	24,35508		
1	20,826	22,258	22,594	64,15569		
Sikloartobilosanton						
	59,316	61,153	55,223	A0 = 49,452	0,02454342	56,23383
0,04	42,595	45,162	45,781	31,43722		
0,2	19,535	17,454	17,111	74,06306		
1	3,575	3,151	3,191	97,30311		

Senyawa 1 (Artonin E)

= 0,184558196 g dlm 1 L

$$y = 223,4x + 44,517$$

$$x = \frac{50 - 44,517}{223,4} = 0,024543419 \text{ mg /ml}$$

$$Mr = 436,4529$$

$$IC_{50} = 0,024543419 \text{ mg /ml} \\ = 0,024543419 \text{ g dlm 1 L}$$

$$0,184558196 \text{ g} = \frac{0,184558196}{434,2633} \\ = 0,000424999 \text{ mol dlm 1L}$$

$$M = 0,000424999 \text{ M}$$

$$IC_{50} = 244,99$$

$$0,024543419 \text{ g} = \frac{0,024543419}{436,4529} \\ = 0,00005623383188 \text{ mol dlm 1 L}$$

$$M = 0,00005623383188 \text{ M}$$

$$IC_{50} = 56,23383$$

Senyawa 2 (Sikloartobilosanton)

$$y = 229,74x + 7,5996$$

$$x = \frac{50 - 7,5996}{229,74} = 0,184558196$$

$$Mr = 434,2633 \text{ g/mol}$$

$$IC_{50} = 0,184558196 \text{ mg/ml}$$

Lampiran 4

Gambar bagian Tumbuhan Tong-tong (*A. elasticus*)



Pohon *A. elasticus*



Batang pohon *A. elasticus*



Daun *A. elasticus*



Buah *A. elasticus*

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema kerja pemisahan dan pemurnian	65
Lampiran 2 Skema Kerja Aktivitas Penghambat Lipase Pankreas	68
Lampiran 3 Data perhitungan IC50 Senyawa 1 dan Senyawa 2	69
Lampiran 4 Gambar bagian tumbuhan Tong-tong (<i>A. elasticus</i>)	70

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah dihasilkan dua senyawa turunan flavon terprenilasi yaitu Artonin E (**1**) yang baru pertama kali ditemukan pada *Artocarpus elasticus* berbentuk padatan kuning dengan titik leleh 143 – 145 °C dan sikloartobilosanton (**2**) yang sudah pernah dilaporkan berbentuk padatan kuning dengan titik leleh 207 – 209 °C. Hasil pengujian aktivitas inhibisi lipase pankreas yang telah dilakukan bahwa kedua senyawa tersebut memiliki aktivitas inhibisi lipase pankreas. Aktivitas inhibisi senyawa **1** (IC₅₀ 56.23 µM) lebih tinggi dari senyawa **2** (IC₅₀ 424.99 µM). Namun aktivitas inhibisi lipase pankreas kedua senyawa tersebut lemah bila diandingkan dengan Orlistat (IC₅₀ 0.08 µM).

5.2 Saran

Untuk dapat mengembangkan kedua senyawa ini menjadi bahan obat atau suplemen anti obesitas baru perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memodifikasi struktur untuk meningkatkan aktivitas inhibisi lipase pankreas. Selain itu perlu dilakukan uji klinik secara in vivo dalam menghambat aktivitas lipase pankreas.

BIODATA PENULIS



Penulis memiliki nama lengkap ROSALINA YULIANA KURANG, terlahir di Kalabahi pada tanggal 5 Juli 1989. Anak keempat dari empat bersaudara dari pasangan Cornelis Kurang dan Rince N. Kurang. Penulis telah menyelesaikan pendidikan SD GMIT Pitungbang (2001), SMPN 1 Kalabahi (2004), SMA K 1 Kalabai (2007) dan KIMIA-FMIPA Universitas Nusa Cendana (2012).

Penulis melanjutkan program studi Magister dan diterima sebagai mahasiswa S2 Kimia di KIMIA-FMIPA-ITS pada semester ganjil 2014/2015 dengan beasiswa BPPDN. Penulis mengambil bidang minat Kimia Organik Bahan Alam dan bergabung dalam kelompok penelitian aktivitas kimiawi tumbuhan ITS (PAKTI) (paktichem@gmail.com) di bawah bimbingan Prof. Dr. Taslim Ersam. Penulis pernah menjadi asisten Sintesis Senyawa Organik, Reaksi Senyawa Organik untuk S1 Kimia ITS semester 3 dan Kimia Dasar untuk S1 Jurusan Geofisika ITS. Penulis dapat dihubungi melalui email : rosalinayuliana89@gmail.com.